INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
CHAIRE
D'AGRONOMIE
THIVERVAL-GRIGNON
78850
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

annales de l'amélioration des plantes

Bimestriel

1979

Vol. 29 - N° 3

inra

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

8 29 (3) 322-348 (1979)

AAP29.3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, 75007 PARIS, Tél. : 551-41-09.

Directeur général : J. POLY

Annales agronomiques.

— L. GACHON, Chef du Département d'Agronomie, 63100 Clermont-Ferrand.
— P. CHARTIER, Chef du Département de Bioclimatologie, C.N.R.A., Versailles.
— J. MAMY, Chef du Département de Science du Sol, C.N.R.A., Versailles.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

— M. RIVES, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris.

Annales de Phytopathologie.

— A. COLÉNO, Chef du Département de Pathologie végétale, I.N.A., Paris Cedex 75231.

Annales de Zoologie-Écologie animale.

— B. HURPIN, Chef du Département de Recherches de Zoologie, 78280 Guyancourt.

Annales de Zootechnie.

— A. RÉRAT, Chef du Département de Nutrition, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.

Annales de Technologie agricole.

— P. DUPUY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux, 21034 Dijon Cedex.
— A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés C.E.R.D.I.A., Le Noyer-Lambert, 91300 Massy.
— B. L. DUMONT, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Viande, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.
— A. BOURDET, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, I.N.R.A., 16, rue N.-Fortin, 75013 Paris.

Annales des Sciences forestières.

— P. BOUVAREL, Inspecteur général de la Recherche agronomique, Chef du Département de Recherche forestières, C.N.R.F., 54280 Seichamps.
— J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production. C.N.R.F., 54280 Seichamps.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

— P. MÉRAT, Directeur de la Station de Génétique factorielle, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.
— B. VISSAC, Chef du Département de Génétique animale, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I.N.R.A.-Deutscher-Imkerbund).

— J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91440 Bures-sur-Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

— P. LARVOR, Directeur du laboratoire des Maladies métaboliques, Theix, Saint-Genès-Champanelle, 63110 Beaumont.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

C.THIBAULT, Directeur de Recherches à l'I.N.R.A.
Administration et secrétariat de la Rédaction à l'adresse suivante : Secrétariat des A.B.A.B.B., C.N.R.Z., 78350 JOUY-EN-JOSAS.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION

Service des Publications de l'I.N.R.A., route de Saint-Cyr, 78000 VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
CHAIRE
D'AGRONOMIE
THIVERVAL-GRIGNON
78850
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

annales de l'amélioration des plantes

Bimestriel

1979

Vol. 29 - N° 3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 227-246.

Stratégies de sélection sur indices à partir de plusieurs populations

Catherine CHRISTOPHE

Station d'Amélioration des Arbres Forestiers, I.N.R.A.
Ardon, 45160 Olivet

Résumé

Dans la sélection d'individus génétiquement supérieurs devant constituer les parents de la génération suivante, le mélange d'individus appartenant à des populations différentes permet de surmonter les contraintes liées à la sélection intrapopulation classique (conserver une variabilité génétique importante et limiter le degré d'apparentement entre les individus sélectionnés).

Deux stratégies de sélection sont alors proposées, dans le cas multi-caractères, et en tenant compte des trois niveaux de variabilité génétique présents chez les individus soumis à la sélection : niveau population, niveau famille de demi-frères maternels dans population et niveau individu dans famille.

— La première stratégie s'appuie sur l'hypothèse d'égalité d'une population à l'autre, des structures de variance-covariance intrapopulation et considère l'effet population comme effet aléatoire. Les estimations des valeurs génétiques individuelles à partir des valeurs phénotypiques individuelles, familiales et de population permettent l'écriture d'un indice de sélection, combinaison linéaire de ces estimations. Les coefficients de la combinaison sont fixés par le sélectionneur de façon à optimiser la valeur génétique moyenne des sélectionnés.

— La seconde stratégie ne fait aucune hypothèse sur la structure des populations : le calcul d'un indice de sélection multicaractères combinée famille-individu se fait à l'intérieur de chaque population, il est combinaison linéaire des estimations des valeurs génétiques additives intrapopulation. La valeur génétique moyenne de tous les individus sélectionnés est alors une moyenne pondérée par les taux de sélection intrapopulation, des valeurs génétiques moyennes sélectionnées intrapopulation. Les coefficients de l'indice et les taux de sélection intrapopulation sont calculés de façon à optimiser cette valeur génétique moyenne globale.

A titre d'exemple, les deux stratégies sont appliquées dans le cas d'espèces forestières.

Le problème majeur est de ne pouvoir prévoir la descendance, par croisements interpopulation, des individus sélectionnés.

Les stratégies de sélection s'appliquent habituellement à des individus appartenant à une même population, population elle-même déjà sélectionnée au sein de l'espèce considérée.

Dans le cas des arbres forestiers, deux niveaux de variabilité génétique sont alors pris en compte à l'intérieur d'une telle population : le niveau famille de

demi-frères maternels (graines récoltées sur un même arbre-mère, pères non contrôlés) et le niveau individu dans famille. La sélection d'individus génétiquement supérieurs qui constitueront les parents de la génération suivante s'appuie sur une information individuelle et une information familiale portant sur plusieurs caractères : il s'agit de la stratégie classiquement appelée *sélection combinée multicaractères sur indice*.

Cependant deux contraintes s'imposent au sélectionneur forestier : parmi les individus sélectionnés, il veut d'une part conserver une variabilité génétique importante et d'autre part limiter leur degré d'apparentement.

L'élargissement du matériel de base permet en partie de surmonter ces contraintes : dans la mesure où la variabilité naturelle entre populations d'une même espèce forestière est généralement très grande, une approche possible est de faire porter la sélection sur des individus appartenant à plusieurs populations. Il s'agira alors d'introduire dans la sélection combinée sur indice mentionnée ci-dessus un niveau supplémentaire, le niveau population.

James (1965) et Herrendörfer (1976) proposent une stratégie de sélection à partir de plusieurs populations, la sélection de type massale ne portant que sur un seul caractère.

Nous proposons ici deux stratégies possibles dans le cas d'une sélection multicaractères combinée (population-famille-individu) sur indice. Notre approche manque de rigueur mathématique parfois, son but essentiel est de poser le problème de la sélection à partir de plusieurs populations et d'ouvrir la discussion.

I. — Présentation du problème

1.1. — *Au niveau de chaque population*

Le vecteur $\underline{Y_{ijk}}$ des valeurs phénotypiques du k^{me} descendant de la j^{me} mère de la population i peut s'écrire, suivant le modèle linéaire classique :

- $\underline{Y_{ijk}} = \underline{\mu_i} + \underline{F_{ij}} + \underline{W_{ijk}}$ (1)

avec : i, indice population, varie de 1 à P,
j, indice famille dans population, varie de 1 à n_i,
k, indice individu dans famille, varie de 1 à n_{ij};

- dans ce texte, les variables soulignées représentent des vecteurs.

Les n_i arbres-mères ont été pris au hasard dans la population i supposée panmictique, ils sont supposés non apparentés. Le modèle (1) est alors un modèle aléatoire, avec :

$$\underline{F_{ij}} \text{ de loi } (\underline{0},\ \Sigma_{F_i})$$
$$\underline{W_{ijk}} \text{ de loi } (\underline{0},\ \Sigma_{W_i})$$

et, d'après les hypothèses ci-dessus :

$$E\ \underline{F_{ij}}\ \underline{(F_{ij'})'} = E\ \underline{F_{ij}}\ \underline{(W_{ijk})'} = 0$$

Les individus (ijk) et (ijk') sont demi-frères maternels (HS) et, à l'intérieur de la population i, présentent une certaine ressemblance due à leur apparentement :

$$\text{COV HS} = E\ \underline{Y_{ijk}}\ \underline{(Y_{ijk'})'} = \Sigma_{F_i} \text{ d'après le modèle (1)},$$

$$= \frac{1}{4}\ \Sigma_{A_i}, \text{ où } \Sigma_{A_i} \text{ est la matrice de variance-covariance génétique additive.}$$

Une sélection intrapopulation viserait alors à optimiser les gains sur les valeurs génétiques additives réalisés après une troncature de la distribution de l'indice : $I = \underline{a'}\ \underline{\hat{A}}$, combinaison linéaire des estimations des valeurs génétiques additives $\underline{\hat{A}}$, obtenues par régression linéaire multiple sur les valeurs phénotypiques individuelles et familiales (ROUVIER, 1959).

1.2. — *Au niveau global*

En regroupant plusieurs populations, on peut décomposer la valeur génétique $\underline{G_{ijk}}$ d'un individu en une composante $\underline{GP_i}$, valeur génétique moyenne de la population i et une composante $\underline{A_{ijk}}$ valeur génétique additive de l'individu (ijk) exprimée en écart à la moyenne $\underline{GP_i}$:

$$\begin{aligned} \underline{Y_{ijk}} &= \underline{\mu} + \underline{G_{ijk}} + \underline{E_{ijk}} \\ &= \underline{\mu} + \underline{GP_i} + \underline{A_{ijk}} + \underline{E_{ijk}} \end{aligned} \qquad (2)$$

où $\underline{GP_i}(\underline{0},\ \Sigma_G)$, $\underline{A_{ijk}}(\underline{0},\ \Sigma_A)$ et $\underline{E_{ijk}}(\underline{0},\ \Sigma_E)$

Soit $\underline{G_s}$ le vecteur génétique moyen des N_s individus sélectionnés :

$$\underline{G_s} = \frac{\sum_{(s)} \underline{G_{ijk}}}{N_s}$$

Dans un premier temps, le sélectionneur va chercher à optimiser $\underline{G_s}$, c'est-à-dire maximiser les éléments de $\underline{G_s}$ correspondant à des caractères favorables et minimiser les éléments de $\underline{G_s}$ correspondant à des critères défavorables.

Dans cet article, nous proposons deux stratégies possibles visant à optimiser ce vecteur $\underline{G_s}$:

— Il est possible d'estimer $\underline{G_{ijk}}$ par régression linéaire multiple sur les valeurs phénotypiques prédictrices individuelles, familiales et moyennes de population. Un indice de sélection $I_{ijk} = \underline{a'}\ \underline{\hat{G}_{ijk}}$ est ensuite calculé et le gain $(\underline{\Delta G})$ sur les valeurs génétiques peut être estimé après une troncature de l'indice. Cette stratégie s'adresse particulièrement au cas où les matrices Σ_{F_i} et Σ_{W_i} du modèle (1) sont égales d'une population à l'autre, et où l'effet population est considéré comme aléatoire.

— Une seconde attitude est de calculer un indice intra-population (voir 1.1.)

et de calculer $\underline{G}_s$ comme une moyenne pondérée des valeurs génétiques des individus sélectionnés dans chaque population : $\underline{G}_s = \sum_i \frac{n_{is}\,\underline{G}_{is}}{N_s}$, où n_{is} est l'effectif sélectionné dans la population i.

Cette stratégie n'exige aucune condition *a priori* sur les populations.

II. — Les populations ont des matrices intra et inter égales

Le but est donc de calculer un indice individuel de sélection, combinaison linéaire des estimations des $\underline{G}_{ijk}$: $\underline{I}_{ijk} = \underline{a}'\,\underline{\hat{G}}_{ijk}$
où $\underline{a}$ est un vecteur de coefficients fixés *a priori* par le sélectionneur.

En supposant la multinormalité de la distribution du vecteur $\begin{pmatrix} G \\ \overline{Y} \end{pmatrix}$, il est possible d'estimer $\underline{G}$, vecteur génétique, par régression linéaire sur $\underline{Y}$, vecteur phénotypique :

$$\underline{\hat{G}} = \Sigma_{GP}\Sigma_{PP}^{-1}[\underline{Y} - E(\underline{Y})]$$

Les termes des matrices de variance-covariance Σ_{GP} et Σ_{PP} sont estimés à l'aide de modèles statistique et génétique.

2.1. — *Estimation des paramètres*

Le modèle linéaire (1) peut s'écrire de façon plus complète :

$$\underline{Y}_{ijk} = \underline{\mu} + \underline{P}_i + \underline{F}_{ijk} + \underline{W}_{ijk} \qquad (1')$$

où $\underline{P}_i$, variable aléatoire effet population est $(\underline{0},\ \Sigma_p)$.

Les individus (ijk) et (ijk') sont demi-frères maternels dans une même population, ils présentent une certaine ressemblance phénotypique :

$$\text{COV HS} = E\,\underline{Y}_{ijk}(\underline{Y}_{ijk'})' = \Sigma_P + \Sigma_F \text{ d'après (1')},$$
$$= \Sigma_G + \frac{1}{4}\,\Sigma_A \text{ d'après (2)}.$$

L'hypothèse d'égalité des matrices INTRA (Σ_{W_i}) et INTER ($\Sigma_{W_i} + n_o\,\Sigma_{F_i}$ avec n_o effectif moyen par famille), permet de considérer les matrices Σ_F et Σ_W estimées à partir de (1') comme des estimations moyennes des Σ_{F_i} et Σ_{W_i}. Alors Σ_A, estimation moyenne des Σ_{A_i}, sera estimée par 4 Σ_F et Σ_G sera estimée par Σ_P.

La connaissance de ces paramètres va permettre le calcul de l'indice individuel, une fois défini le vecteur phénotypique prédicteur.

2.2. — *Le choix du vecteur prédicteur* $\underline{Y}$

A priori, $\underline{Y}$ doit pouvoir être décomposé selon les trois niveaux de variabilité considérés, à savoir :

$[\underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}}]$, contribution individuelle exprimée en écart à la valeur moyenne familiale;

$[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{i..}}]$, contribution familiale en écart à la moyenne de la population;

$[\underline{Y_{i..}} - \underline{Y_{...}}]$, contribution de la population en écart à la moyenne générale.

Le calcul des éléments des matrices Σ_{GP} et Σ_{PP} (voir annexe 1) dans ce cas nous amène à écrire $\underline{\hat{G}_{ijk}}$ de la façon suivante :

$$\underline{\hat{G}_{ijk}} = 3\,\Sigma_F\,\Sigma_W^{-1}\,[\underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}}] \qquad (3)$$
$$+ (n_{ij} + 3)\,k_2\,\Sigma_F[k_1\Sigma_F + k_2\Sigma_W]^{-1}[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{i..}}]$$
$$+ n_{io}k_5\left[\Sigma_P + \frac{n_{ij}+3}{n_{io}}\,\Sigma_F\right][k_3\Sigma_p + k_4\Sigma_F \times k_5\Sigma_W]^{-1}[\underline{Y_{i..}} - \underline{Y_{i...}}]$$

A titre d'exemple, plaçons-nous dans le cas d'une sélection pour un seul caractère, avec un dispositif complètement équilibré :

($n_{ij} = k$, $n_i = f$, pour tout i,j). Le modèle (3) s'écrit alors :

$$\hat{G}_{ijk} = \frac{3\,\sigma_f^2}{\sigma_W^2}(Y_{ijk} - Y_{ij}) + \frac{\sigma_f^2}{\sigma_f^2 + \frac{\sigma_W^2}{k}}(Y_{ij.} - Y_{i..}) + \frac{(\sigma_p^2 + \sigma_{f/f}^2)}{\sigma_p^2 + \frac{1}{f}\left(\sigma_f^2 + \frac{\sigma_W^2}{k}\right)}(Y_{i..} - Y_{...})$$

Quelles que soient les parts relatives de σ_p^2, σ_f^2 et σ_W^2 dans la variance totale, le poids de la composante population sera au moins égal à celui de la composante famille, et toujours plus grand dès que σ_p^2 n'est pas nul : le coefficient population reste proche de 1 tandis que les coefficients individuels et familiaux peuvent varier entre 0 et 1 (σ_f^2 varie entre 0 et $\frac{1}{3}\sigma_W^2$).

Cependant *a priori* le sélectionneur désire accorder autant d'importance à la famille (arbre mère) qu'à la population (pollen moyen).

Dans ces conditions, on choisit d'utiliser un vecteur prédicteur $\underline{Y}$ décomposé en deux niveaux seulement :

— la composante individuelle $[\underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}}]$,

— la composante familiale exprimée en écart à la moyenne générale

$[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{...}}]$, incluant implicitement la composante population puisque $[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{...}}] = [\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{i..}}] + [\underline{Y_{i..}} - \underline{Y_{...}}]$

Ce choix nous amène au modèle suivant (voir annexe 2) :

$$\underline{\hat{G}_{ijk}} = 3\,\Sigma_F\,\Sigma_W^{-1}\,[\underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}}] \qquad (4)$$
$$+ [n_{io}k_5\Sigma_p + (n_{ij}+3)(k_2+k_5)\,\Sigma_F][k_3\Sigma_p + k_6\Sigma_F + (k_2+k_5)\,\Sigma_W]^{-1}$$
$$[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{...}}]$$

En se plaçant dans le cas simple exposé ci-dessus, le modèle (4) devient :

$$\widehat{G}_{ijk} = 3\frac{\sigma_f^2}{\sigma_W^2}(Y_{ijk} - Y_{ij.}) + \frac{\sigma_p^2 + \sigma_f^2}{\sigma_p^2 + \sigma_f^2 + \frac{\sigma_W^2}{k}}[(Y_{ij.} - Y_{i..}) + (Y_{i..} - Y...)]$$

où les composantes individuelle et familiale varient en fonction de l'importance de σ_f^2 d'une part, de $(\sigma_p^2 + \sigma_f^2)$ d'autre part par rapport à σ_W^2.

Le modèle (4) a été retenu pour estimation de $\underline{G_{ijk}}$ et l'indice individuel, utilisé comme critère de sélection, est calculé comme combinaison linéaire des $\underline{\widehat{G}_{ijk}}$.

2.3. — *Sélection sur indice*

La base de la sélection étant un indice multicaractères combiné population-famille-individu, — $I_{ijk} = \underline{a}'\,\underline{\widehat{G}_{ijk}}$ — il s'agit désormais de déterminer les éléments du vecteur a de façon à optimiser le vecteur des espérances des gains génétiques $E(\underline{\Delta G})$ après une troncature ΔI :

$$E(\underline{\Delta G_{ijk}}) = \frac{\Sigma_{GP}\Sigma_{PP}^{-1}\Sigma_{GP}\underline{a}}{\sigma_I^2}\Delta I = \frac{i}{\sigma_I}\Sigma_{GP}\Sigma_{PP}\Sigma_{GP}\underline{a},$$

où σ_I^2 est la variance de I et i est la différentielle de sélection standartisée $\Delta I/\sigma_I$.

Il est en effet possible de chercher par tâtonnement (MALLARD, 1976) un vecteur $\underline{a}$, qui permette de se rapprocher d'un vecteur optimum $\underline{G_o}$ défini *a priori* (par exemple, chacun des termes de $\underline{G_o}$ peut être la meilleure valeur prise pour ce caractère au niveau des moyennes de famille). Cette méthode empirique paraît la plus réaliste dans la mesure où elle permet de faire évoluer les différents caractères dans un sens déterminé à l'avance (ROUVIER, 1976). Le programme INDEX (CHRISTOPHE, 1978) permet effectivement d'essayer différents jeux de coefficients, il donne pour chaque jeu les valeurs de $E(\underline{\Delta G_{ijk}})$ pour $i = 1{,}75$ correspondant à 10 p. 100 d'individus sélectionnés. Une fois le vecteur $\underline{a}$ déterminé, le sélectionneur peut estimer, pour une différentielle de sélection standardisée i donnée *a priori*, la valeur génétique moyenne des individus sélectionnés pour chacun des critères pris en considération :

$$E(\underline{G_s}) = \underline{\mu} + \frac{i}{\sigma_I}\Sigma_{GP}\Sigma_{PP}^{-1}\Sigma_{GP}\underline{a}$$

III. — Les populations ont des matrices intra et inter inégales

A l'intérieur de chaque population, de moyenne initiale $\underline{\mu_i}$, il est possible de calculer classiquement pour chaque individu un indice de sélection combiné famille-individu (ROUVIER, 1969) et de calculer l'espérance de gain génétique réalisable par troncature de la distribution de l'indice :

$$E(\underline{\Delta g})_i = \frac{(\Sigma_{GP}\Sigma_{PP}^{-1}\Sigma_{GP})_i\underline{a_i}}{\sigma_{Ii}^2}(\Delta I)_i = \underline{i_i h_i^2}\sigma_{Ii}$$

Pour des facilités d'écriture et par analogie avec d'autres équations plus classiques, on appellera $\underline{h_i^2}$ le vecteur $\frac{(\Sigma_{GP}\,\Sigma_{PP}^{-1}\,\Sigma_{GP})_i}{\sigma_{Ii}^2}\,\underline{a_i}\;i_i$ est, pour une proportion d'éléments sélectionnés α_i donnée, la différentielle de sélection standardisée $(\Delta I/\sigma_I)_i$ (BECKER, 1967). La valeur génétique moyenne de l'ensemble des individus sélectionnés, en regroupant les p populations, s'écrira :

$$\underline{E(G_s)} = \sum_{i=1}^{p} \frac{n_{is}(\underline{\mu_i} + i_i\underline{h_i^2}\sigma_{Ii})}{N_s}$$

où n_{is} est l'effectif sélectionné dans la population i,
N_s effectif total sélectionné $= \sum_{i=1}^{p} n_{is}$.

Le vecteur $\underline{h_i^2}$ dépendant des coefficients $\underline{a_i}$, il reste au sélectionneur à déterminer les différents vecteurs $\underline{a_i}$ et les différents i_i dans chaque population, afin d'optimiser le vecteur $\underline{G_s}$. Plusieurs stratégies sont possibles, suivant l'importance accordée à la contrainte de conserver une base génétique assez large.

3.1. — *Il faut garder un effectif égal dans chaque population*

Se fixer *a priori* $n_{is} = n_s$ pour tout i, définit pour chaque population la proportion de sélectionnés $\alpha_i = n_s/N_i$, N_i étant l'effectif initial de la population i. Si l'on se fixe *a priori* également un vecteur optimum $\underline{G_o}$, le vecteur $\underline{a_i}$ sera choisi de façon à optimiser le vecteur $(\underline{\mu_i} + i_i\underline{h_i^2}\sigma_{Ii})$, i_i étant déterminé à partir de la valeur donnée à α_i. La valeur moyenne des individus sélectionnés sera alors

$$\underline{E(G_s)} = \frac{1}{p}\sum_{i=1}^{p}(\underline{\mu_i} + i_i\underline{h_i^2}\sigma_{Ii})$$

En donnant *a priori* le même poids à toutes les populations, $\underline{E(G_s)}$ peut être très inférieure à $\underline{G_o}$ si certaines populations se révèlent médiocres, soit par des corrélations défavorables entre les critères de sélection, soit par des performances moyennes jointes à une faible variabilité. En partant d'un grand nombre de populations, la stratégie optimale est de faire au préalable un tri des populations : le sélectionneur peut se fixer un seuil $\underline{G_1}$ et ne conserver que les populations pour lesquelles les termes du vecteur $(\underline{\mu_i} + \underline{i_i h_i^2}\sigma_{Ii})$ sont au moins égaux aux termes correspondants du vecteur $\underline{G_1}$.

3.2. — *Il faut optimiser le vecteur* $\underline{G_s}$

L'objectif du sélectionneur est que la valeur génétique moyenne des individus sélectionnés se rapproche au maximum d'une valeur idéale $\underline{G_o}$ fixée *a priori*. Il faut déterminer quelle proportion α_{io} d'individus sélectionner dans la population i pour que l'on ait :

$$\frac{\sum_i \alpha_{io} N_i(\underline{\mu_i} + \underline{i_{io} h_i^2}\sigma_{Ii})}{N_s} = \underline{G_o} \qquad (5)$$

$$\text{avec} \qquad N_s = \sum_i \alpha_{io} N_i$$

Les termes i_i et $\underline{h_i^2}$ dépendant du vecteur de coefficient $\underline{a}$, c'est en essayant divers jeux de coefficients que l'on peut atteindre le but proposé. Pour que l'équation (5) soit vérifiée, une solution possible est que l'égalité suivante soit vérifiée au niveau de chaque population :

$$\underline{\mu_i} + i_{io}\underline{h_i^2}\sigma_{Ii} = \underline{G_o}$$

i_{io} est la différentielle de sélection standardisée obtenue en sélectionnant α_{io} individus dans la population i, de sorte que, avec un vecteur $\underline{a}$ donné, la moyenne des individus sélectionnés soit égale à $\underline{G_o}$. Avec le programme INDEX mentionné ci-dessus, il est possible de calculer l'espérance de la valeur génétique moyenne de 10 p. 100 d'individus sélectionnés :

$$E(\underline{G_{10}}) = \underline{\mu_i} + i_{10}\underline{h_i^2}\sigma_{Ii}, \quad \text{avec} \quad i_{10} = \underline{1.75}.$$

En rapprochant cette équation de la précédente, il vient naturellement :

$$\frac{1}{i_{io}}(\underline{G_o} - \underline{\mu_i}) = \frac{1}{i_{10}}(E\underline{(G_{10})} - \mu_i)$$

Cette égalité de vecteurs implique l'égalité terme à terme des éléments des vecteurs.

Soit λ_k le rapport entre les kièmes termes des deux vecteurs :

$$\lambda_k = \frac{(G_o - \mu_i)_K}{(E(G_{10}) - \mu_i)_K} = \frac{(i_{io})_K}{i_{10}}$$

La différentielle de sélection i_{io} appliquée à l'indice de sélection dans la population i de sorte que la moyenne génétique des sélectionnés soit égale à $\underline{G_o}$ répond à trois exigences :

— elle est bien sûr la même pour tous les termes k des vecteurs génétiques;

— elle est telle que chacun des k termes de $(\underline{\mu_i} + i_{io}\underline{h_i^2}\sigma_{Ii})$ soit égal au terme correspondant de $\underline{G_o}$;

— les différentielles i_{io} sont inversement proportionnelles aux proportions de sélectionnés α_{io} : Si l'on veut garder une variabilité importante après sélection, il faut maximiser les α_{io} afin que chaque population soit encore représentée, il faut donc minimiser les valeurs i_{io} déterminées au niveau de chaque population.

Afin de répondre à ces exigences il faut définir, par tâtonnements successifs au niveau de chaque population, un vecteur $\underline{a_i}$ tel que :

— les λ_k soient les plus semblables possible,

— la valeur maximale des λ_k définisse le rapport i_{io}/i_{10},

— cette valeur maximale des λ_k soit minimale.

Une fois ce vecteur $\underline{a_i}$ déterminé, on retiendra donc pour la population i la différentielle standardisée $i_{io} = i_{10}$ (max. λ_k) = 1,75 (max. λ_k). Le nombre d'individus sélectionnés pour atteindre l'objectif $\underline{G_o}$ est déterminé par $N_{os} = \Sigma\alpha_{io}N_i$, les α_{io} étant obtenus à partir des i_{io} (BECKER, 1967).

Si le sélectionneur s'était fixé à l'avance un effectif sélectionné $N_s = (\sum_i \alpha_i N_i)$

supérieur à N_{os}, il peut choisir des α_i proportionnels aux α_{io} déterminés précédemment : $\alpha_i = \alpha_{io}\frac{N_s}{N_{os}}$, avec la contrainte $\alpha_i \leqslant 1$.

La moyenne génétique $\underline{G_s}$ des sélectionnés est alors estimée par :

$$E(\underline{G_s}) = \frac{\sum_i \alpha_i N_i(\underline{\mu_i} + \underline{i_i h_i^2}\sigma_{Ii})}{N_s}$$

On remarque qu'il est facile d'estimer la perte obtenue quand on sélectionne un effectif N_s supérieur à l'effectif optimal N_{os}. En effet :

$$E(\underline{G_s}) = \underline{G_o} - \frac{\sum_i \alpha_{io} N_i h_i^2 \sigma_{Ii}(i_{io} - i_i)}{N_{os}}$$

IV. — Exemples d'application

Afin d'illustrer les propositions de stratégie présentées ci-dessus, deux exemples portant sur des arbres forestiers vont être rapidement évoqués.

4.1. — *Cas où les populations ont des matrices INTRA et INTER égales*

4.1.1. *Stratégie adoptée*

Une expérience comportant 26 provenances d'une partie de l'aire naturelle du Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) a été installée, selon un dispositif blocs complets à parcelle unitaire monoarbre, en Dordogne en 1971. Chaque provenance est représentée par 11 à 15 familles de demi-frères (11 à 15 arbres-mères non sélectionnés dans chaque population initiale et suffisamment distants les uns des autres pour éviter tout risque d'apparentement). Après 5 ans de plantation, il fallait marquer une éclaircie systématique dans la plantation (suppression d'un arbre sur deux) afin de limiter les problèmes de concurrence. Parallèlement, les individus génétiquement supérieurs devaient être conservés par voie végétative : il fallait donc établir un classement des individus selon leur valeur génétique globale et ne retenir que les meilleurs individus du classement. Une comparaison des paramètres génétiques d'une population à l'autre (CHRISTOPHE, BIROT, 1979) a permis d'accepter l'hypothèse d'égalité des différentes matrices INTRA et INTER. Les modèles (1) et (2) sont donc applicables à ce dispositif, et un indice de sélection combinée multicaractère a été calculé au niveau individuel.

Compte tenu des effectifs relativement importants ($p = 26$, $n_i = 11$ à 15, $n_{ij} = 23$ à 45, $N = \sum_j n_{ij} = \sum_{i=1} \sum_{j=1}^{n_i} n_{ij} = 13\,000$), les coefficients du modèle (4) ont été simplifiés et l'indice individuel s'écrit finalement (en acceptant de négliger $\frac{1}{N}$ devant $\frac{1}{n_{ij}}$ et $\frac{1}{n_{io}}$) :

$$I_{ijk} = \underline{a'}\underline{\hat{G}_{ijk}}$$
$$= \underline{a'}\left[[3\,\Sigma_F\,\Sigma_W^{-1}][Y_{ijk} - Y_{ij.}] + \left[\Sigma_p + \frac{n_{ij}+3}{n_{ij}}\Sigma_F\right]\left[\Sigma_p + \Sigma_F + \frac{\Sigma_W}{n_{ij}}\right]^{-1}[Y_{ij.} - Y_{...}]\right]$$

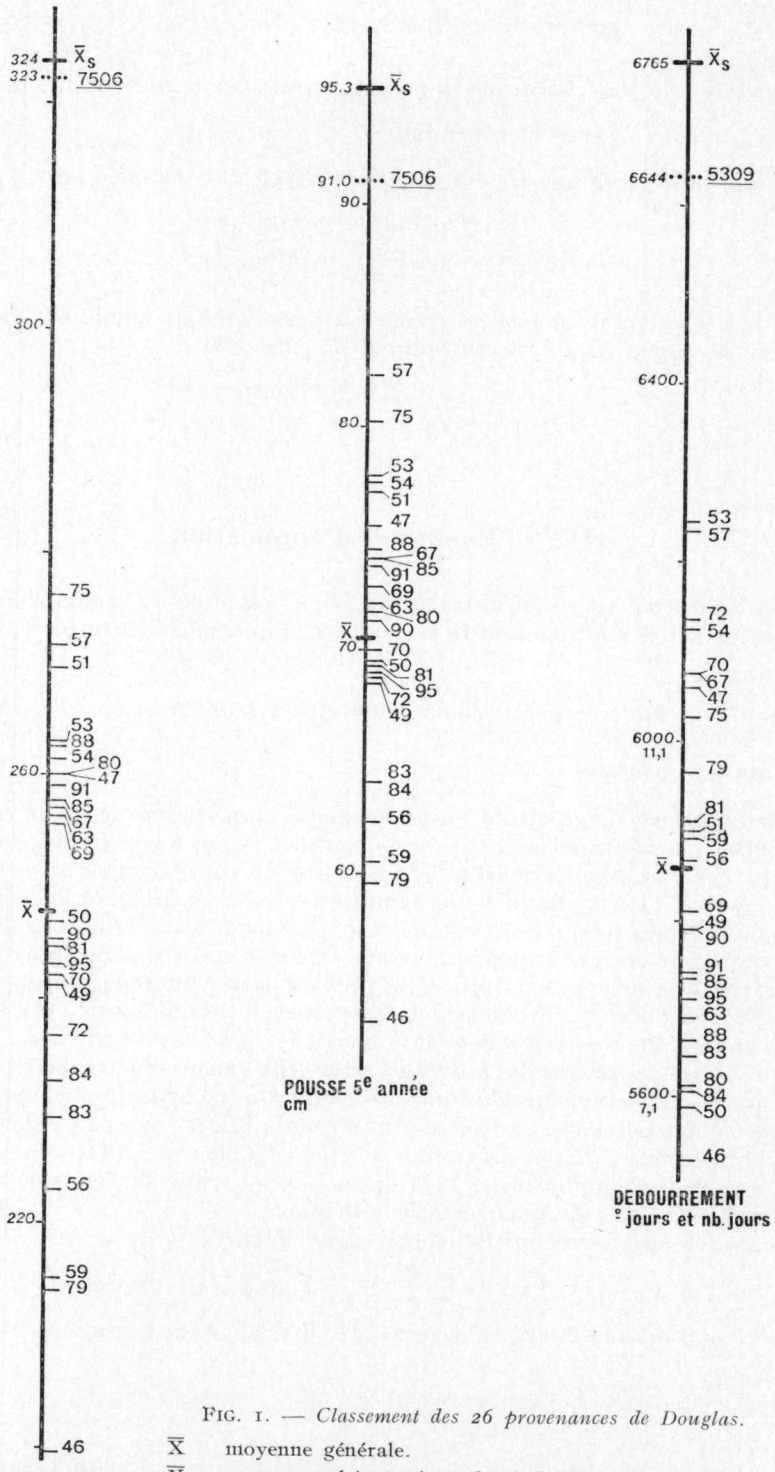


FIG. 1. — *Classement des 26 provenances de Douglas.*

$\overline{X}$ moyenne générale.

$\overline{X}_s$ moyenne phénotypique des individus sélectionnés.

7506 moyenne familiale la plus élevée : élément de G_0.

La sélection vise à augmenter la valeur génétique de trois critères, hauteur totale 1975, pousse de l'année 1975, et note de tardiveté du débourrement exprimée en degrés-jours. La figure 1 présente les classements des 26 populations pour chacun des critères et le tableau 1 ci-dessous donne la valeur des différentes composantes Σ_p, $\Sigma_F = \left(= \frac{1}{4} \Sigma_A\right)$ et Σ_W.

TABLEAU 1

Composantes matricielles de la variance-covariance

Pour chaque élément, le terme supérieur appartient à Σ_p, le terme moyen à Σ_F et le terme inférieur à Σ_W. Les termes en italique dans la partie triangulaire haute indiquent les coefficients de corrélation correspondants.

	Hauteur 75	Pousse 75	Débourrement 76
Hauteur 1975	335	*.98*	*.33*
	142	*.89*	*.22*
	2 086	*.84*	*.0*
Pousse 1975	113	40	*.49*
	56	21	*.42*
	750	389	*.04*
Débourrement 1976	1 201	621	39.10^3
	551	363	36.10^3
	— 19	264	124.10^3

Si on choisit pour vecteur optimum $\underline{G}_o$ le vecteur dont chaque élément est la valeur prise par la meilleure moyenne familiale, on a :

$$G_o = \begin{bmatrix} 323 \\ 91 \\ 6\,644 \end{bmatrix} \text{ avec la moyenne générale initiale } \mu = \begin{bmatrix} 248 \\ 71 \\ 5\,863 \end{bmatrix}$$

Après avoir essayé plusieurs vecteurs $\underline{a}$, le vecteur retenu $\begin{bmatrix} 25 \\ 60 \\ 1 \end{bmatrix}$ est tel qu'il permette, avec une intensité de sélection de 1,5 p. 100 une espérance de la valeur génétique moyenne des sélectionnés de $\begin{bmatrix} 301 \\ 92 \\ 6\,555 \end{bmatrix}$ soit un gain relatif réalisable de 21 p. 100 pour la hauteur totale, 30 p. 100 pour la pousse annuelle, 12 p. 100 pour le débourrement exprimé en degré-jours (74 p. 100 s'il est exprimé en nombre de jours). Le tableau 2 présente la répartition par provenance et par famille des 205 individus sélectionnés (soit 1.5 p. 100 de l'effectif initial) : 6 provenances sur les 26 regroupent à elles seules 84 p. 100 de l'effectif total sélectionné, 7 provenances sont totalement éliminées, 7 autres ne sont plus représentées que

TABLEAU 2

Répartition des plants sélectionnés par provenance et par famille

Pour un taux global de 1,5 p. 100, 204 individus ont été sélectionnés, répartis en 74 familles et 20 provenances

Numéro et nom de la provenance	Effectif total sélectionné	Pourcentage efectif initial	Effectifs par familles numérotées en séquence														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1047 - Concrète	6	(1 %)	1		1	1	1	1				1					
1051 - Sedrowolley	12	(2 %)		1		2	1	1		4	1			2			
1053 - Darrington	25	(4.3 %)			2	1	4	1	2		7	1		1	3		3
1054 - Arlington	32	(6.6 %)	11	4	7	1	2				1	3	1			2	
1057 - Granite Falls	32	(9 %)	3		1	3	4		3	1	9	3	5				
1067 - Skykomish	15	(2.3 %)	8	2		1	1	2								1	
1075 - Enumclaw	57	(10.3 %)		6			3	34	1	2		2			2	1	6
1070 - Denny Creek	5	(.8 %)							4			1					
1063 - Gold Bar	4	(.75 %)						1			3						
1088 - Castle Rock	4	(.8 %)		2						1			1				
1080 - Yelm	3	(.7 %)												1	2		
1050 - Marblemount	1	(.2 %)		1													
1056 - Sloan creek	1	(.2 %)				1											
1069 - North Bend	2	(.4 %)			2												
1072 - Chester Morselake	1	(.2 %)													1		
1081 - Alder Lake	1	(.2 %)			1												
1085 - Randle	1	(.2 %)												1			
1090 - Cougar	1	(.2 %)										1					
1091 - Yale	1	(.2 %)								1							
	204	(1.5 %)															

par un seul individu. La différentielle de sélection phénotypique réalisée après sélection des 1,5 p. 100 meilleurs indices est, exprimée par rapport à la moyenne générale initiale, de 31 p. 100 pour la hauteur totale 4 ans après plantation, 35 p. 100 pour la pousse de la 5e année et 96 p. 100 pour la tardiveté du débourrement (exprimée en nombre de jours).

4.1.2. *Comparaison avec une autre stratégie possible*

Il aurait été possible de faire un tri préalable des provenances : dans ce cas, on aurait été amené à supprimer les 7 mêmes provenances rejetées par l'indice et à retenir les provenances 1075, 1054, 1057, 1053, 1067, 1051 (très bonnes performances, ou encore performances moyennes mais jointes à une forte variabilité et des corrélations génétiques positives entre vigueur et tardiveté).

Pour chacune des neuf meilleures provenances, on a calculé un indice de sélection intraprovenance, en déterminant pour chacune le vecteur $\underline{a}$ qui permette d'atteindre le même objectif $\underline{G_o}$: on constate alors que les individus sélectionnés sur indice interprovenance (tabl. 2) sont effectivement les meilleurs indices obtenus par sélection intraprovenance. Ainsi, quand la proportion globale retenue reste de 1,5 p. 100, les individus des provenances 1054, 1057 et 1075 correspondant à des proportions intrapopulation de 6,6 p. 100, 9 p. 100 et 10 p. 100, comprennent les 5 p. 100 meilleurs indices sélectionnés à l'intérieur de chaque population.

4.2. — *Cas où les populations ont des matrices INTRA et INTER différentes*

Pour l'Epicea (*Picea abies*) un verger à graines expérimental ne comportant que six provenances artificielles françaises, représentées par 8 à 10 descendances maternelles a été installé en 1970 à Nancy selon le même dispositif que précédemment. Là encore, les critères pris en compte sont la tardiveté du débourrement (exprimée en nombre de jours), la hauteur totale et la pousse annuelle en 1974, et la pousse cumulée 1971-1974.

Le tableau 3 présente les termes des matrices de corrélation INTRA et INTER au niveau de chaque provenance (les INTER sont estimées avec 8 d.d.l. en moyenne et les INTRA avec 800 d.d.l.) : dans le cas présent, il a paru nécessaire d'appliquer la stratégie 3-2. En effet, bien que les matrices INTRA soient peu différentes, confondre une provenance dont le coefficient de corrélation INTER est de .8 entre vigueur et tardiveté (pop. 6) avec une provenance dont le même coefficient est de —.6 (pop. 2 ou 3) paraîtrait non raisonnable. Même si le nombre de d.d.l. est peu élevé, et donc la précision de ces estimations est assez faible, ces valeurs seront considérées par le sélectionneur comme une tendance à des liaisons génétiques suffisamment différentes pour considérer chaque population séparément.

Le classement des provenances pour les différents critères est représenté figure 2 : le vecteur $\underline{G_o}$, idéal à atteindre, comprend les meilleures performances familiales, il s'écrit $\begin{bmatrix} 31 \\ 216 \\ 68 \\ 156 \end{bmatrix}$. Le vecteur $(\underline{G_o} - \underline{\mu_i})$ s'écrit dans ce cas, pour cha-

TABLEAU 3

Les matrices de corrélation INTRA et INTER des six provenances

Pop.	Matrices INTRA				h^2	Matrices INTER			
		DEB 74	H 74	P 74	.46	DEB 74	DEB 74	H 74	P 74
	H 74	— 213			.54	H 74	— 291		
1	P 74	— 288	812		.51	P 74	— 393	980	
	P 71/74	— 220	968	830	.48	P 71/74	— 401	983	995
					.84	DEB 74			
	H 74	— 259			.58	H 74	— 541		
2	P 74	— 310	819		.69	P 74	— 602	985	
	P 71/74	— 282	966	848	.65	P 71/74	— 599	990	980
					.48	DEB 74			
	H 74	— 192			.39	H 74	— 470		
3	P 74	— 213	833		.52	P 74	— 609	969	
	P 71/74	— 214	974	858	.40	P 71/74	— 537	981	988
					.54	DEB 74			
	H 74	— 108			.24	H 74	309		
4	P 74	— 198	816		.22	P 74	187	788	
	P 71/74	— 116	966	697	.20	P 71/74	234	981	860
					.72	DEB 74			
	H 74	— 170			.32	H 74	— 080		
5	P 74	— 227	801		.25	P 74	— 222	881	
	P 71/74	— 181	966	695	.34	P 71/74	— 084	980	849
					.68	DEB 74			
	H 74	— 178			.27	H 74	812		
6	P 74	— 231	813		.29	P 74	690	780	
	P 71/74	— 172	966	698	.21	P 71/74	777	965	933

cune des populations :

$$\begin{bmatrix} 9.9 \\ 23.3 \\ 9.6 \\ 1.9 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 4.76 \\ 26.17 \\ 11.81 \\ 21.3 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 10.76 \\ 19.29 \\ 6.96 \\ 13.74 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 8.08 \\ 18.81 \\ 8.02 \\ 15.07 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 11.57 \\ 20.07 \\ 8.79 \\ 16.09 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 11.42 \\ 17.38 \\ 7.54 \\ 14.8 \end{bmatrix}$$

Il a fallu essayer une vingtaine de vecteurs $\underline{a_i}$ pour chaque population, qui, pour une intensité de sélection de 10 p. 100, entraînent des espérances de gains génétiques telles que les λ_k (voir § 3.2.) soient peu différents selon k, et que la valeur maximale des λ_k soit minimale.

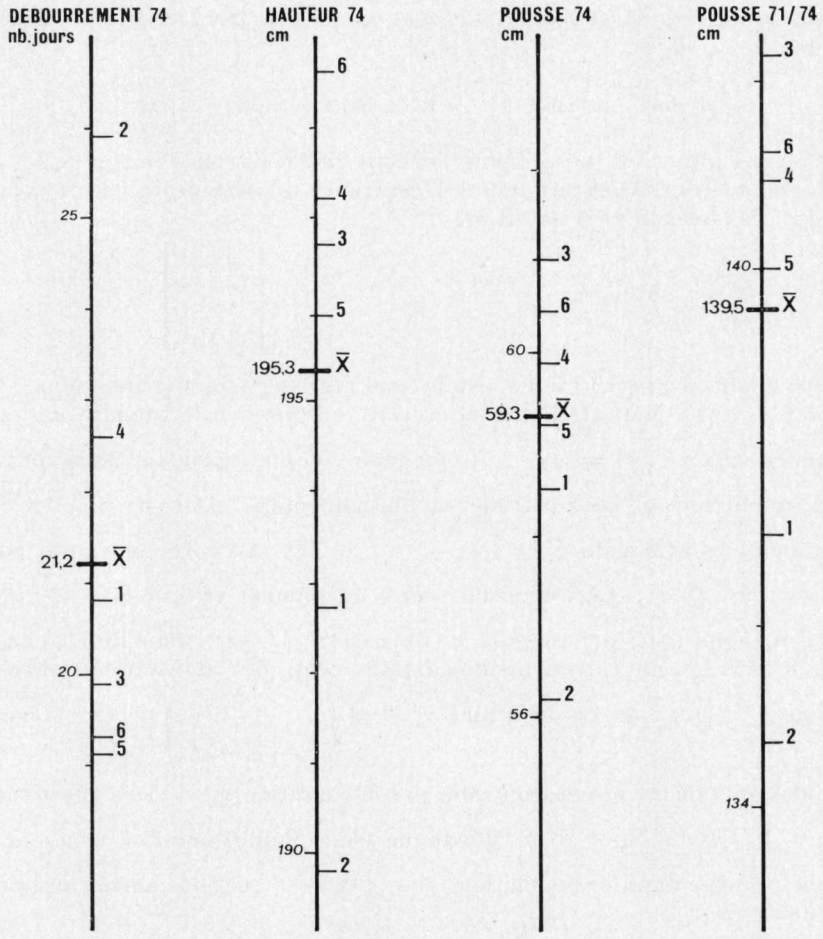


FIG. 2. — *Comportement des 6 provenances d'Épicea.*

Finalement, les jeux suivants ont été retenus pour les six populations :

$$\begin{bmatrix} 15.5 \\ 1 \\ 3 \\ 1 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 13 \\ 1 \\ 7 \\ 1 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 13 \\ 1 \\ 3 \\ 1 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 4 \\ 2 \\ 11 \\ 2 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 5 \\ 2 \\ 3 \\ 1 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

qui donnent pour λ_k les valeurs suivantes :

$$\begin{bmatrix} 2.80 \\ 1.84 \\ \underline{2.82} \\ 2.61 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 2.33 \\ 1.90 \\ \underline{2.40} \\ 2.06 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} \underline{4.16} \\ 2.68 \\ 3.97 \\ 3.08 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 1.87 \\ 1.48 \\ \underline{1.90} \\ 1.64 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 2.91 \\ 1.58 \\ \underline{3.06} \\ 1.54 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} \underline{1.37} \\ .87 \\ 1.16 \\ 1.04 \end{bmatrix}$$

Si l'objectif est d'atteindre, au niveau de chaque population, le vecteur génétique optimum $\underline{G}_o$, il faudrait appliquer une différentielle de sélection i_o correspon-

dant au $\hat{\lambda}_k$ maximum (souligné ci-dessus) ce qui entraînerait une proportion de sélectionnés α_{io} de :

.0055 .021 . 01 .072 .003 .21

Avec ces intensités de sélection, l'effectif global retenu serait de $S_o = \Sigma\alpha_{io}n_i = 236$, soit 5 p. 100 de l'effectif initial. L'espérance du vecteur de valeur génétique moyenne des sélectionnés serait de :

$$E(\underline{G_s}) = \sum_{i=1}^{6} \frac{\alpha_{io}n_i(\mu_i + i_{o_i}h_i^2\alpha_i)}{S_o} = \begin{bmatrix} 30.61 \\ 223.84 \\ 68.58 \\ 159.41 \end{bmatrix}$$

Néanmoins, l'objectif présent est de conserver 50 p. 100 des individus, soit un effectif $S = 2\,325$. pour atteindre cet objectif, on propose de prendre des α_i proportionnels aux α_{io} : $\alpha_i = \alpha_{io}\frac{S}{S_o}$. Il faut tenir compte cependant de la contrainte $\alpha_i \leqslant 1$, ce qui nous oblige à procéder en plusieurs étapes. Dans un premier temps, déterminons les différents $\alpha_i^1 = \alpha_{io}\frac{S}{S_o} = \alpha_{io} \times 9{,}85$, avec la contrainte pour la population 6 : $\alpha_6^1 = 1$. Ceci détermine ainsi un premier effectif $S_1 = \sum_{i=1}^{6} \alpha_i^1 N_i = 1538$, il manque donc par rapport à l'objectif $S = 2\,325,786$ individus que l'on répartira dans les cinq premières populations, selon des taux proportionnels aux α_i^1 : pour $i = [1, \ldots, 5]$, on détermine $\alpha_i^2 = \alpha_i^1\left(1 + \frac{786}{\sum_{i=1}^{5} \alpha_i^1 N_i}\right) = \alpha_i^1 \times 1.97$. Pour la population 4 on est encore contraint par la condition $\alpha_4^2 = 1$ et l'effectif trouvé est $S_2 = \sum_{i=1}^{5} \alpha_i^2 N_i + N_4 = 1987$: il manque 338 individus que l'on trouvera selon le même principe dans les populations 1, 2, 3 et 5, ce qui nous amène aux proportions finales α_i :

α_i : 23 % 74 % .34 % 100 % 10 % 100 %

La population 3, précoce, à tardiveté de débourrement peu héritable et ayant des corrélations vigueur-débourrement défavorables se trouve fortement contre-sélectionnée.

La valeur génétique des sélectionnés est alors, en espérance :

$$E(\underline{G_s}) = \frac{\sum_{i=1}^{6} \alpha_i N_i(\underline{\mu_i} + i_i\underline{h_i^2}\sigma_{I_i})}{S} = \begin{bmatrix} 22.78 \\ 198.99 \\ 60.16 \\ 141.67 \end{bmatrix}$$

En sélectionnant 50 p. 100 des individus présents dans cette étude, par rapport aux 5 p. 100 qui auraient permis d'atteindre l'objectif idéal $\underline{G_o}$, l'espérance de la valeur génétique moyenne des sélectionnés subit une perte relative de 26 p. 100 pour le débourrement, 8 p. 100 pour la hauteur 1974, 12 p. 100 pour la pousse 1974 et 9 p. 100 pour la pousse cumulée 1971-1974. La plus grande perte, sur le débourrement, est due à l'importance donnée à la population 6 : bien que précoce, elle est

conservée entièrement; néanmoins, grâce aux corrélations favorables entre débourrement et vigueur, une sélection ultérieure plus intense permettra un gain génétique plus important.

V. — Discussion et conclusion

1) Cette approche empirique présentée ici a voulu faire ressortir les problèmes que présentait une sélection sur indices quand les individus sur lesquels porte la sélection appartiennent à des populations différentes. On a procédé beaucoup par tâtonnements, que ce soit pour définir la stratégie à adopter ou pour définir les paramètres d'une stratégie retenue.

Le premier choix à faire est de savoir si les matrices INTRA et INTER des différentes populations peuvent être considérées comme semblables ou non. Quand la sélection porte sur un faible nombre de caractères, on peut procéder par étapes successives pour tester l'égalité des matrices :

— tester l'égalité des variances résiduelles (INTRA) : H_1,

— si H_1 est acceptée, tester l'égalité des coefficients de corrélation INTRA : H_2.

H_2 acceptée entraîne l'acceptation de l'hypothèse d'égalité de toutes les matrices variance-covariance INTRA :

— tester ensuite l'égalité des variances totales intrapopulations : H_3,

— si H_3 est acceptée, tester l'égalité des coefficients de corrélation phénotypiques totaux : H_4.

H_4 acceptée entraîne l'acceptation de l'hypothèse d'égalité des matrices de variance-covariance TOTALE. De H_2 et H_4 acceptées, et puisque TOTALE = INTER + INTRA, on en déduit l'égalité des matrices INTER et donc des différents paramètres génétiques qui en découlent.

Ce procédé est inapplicable dès qu'il y a plus de 2 ou 3 caractères : la précision et la puissance globale des tests en séries sont très complexes à estimer et on ne sait quelle confiance accorder à ces tests. Actuellement, le sélectionneur agit empiriquement, suivant la signification biologique qu'il accorde aux termes des matrices. Il est donc nécessaire de mettre au point des tests de comparaison globale de matrices de variance-covariance. On en trouve une première approche chez CORSTEN, 1976, ceci reste bien sûr à développer.

2) Après avoir défini la stratégie à adopter, l'utilisation d'indices de sélection multicaractères nécessite un second choix : celui de la détermination du ou des vecteurs *a*. On conseille ici de procéder par tâtonnements, en se fixant toujonrs un objectif idéal à atteindre. Il paraît en effet illusoire de vouloir donner à ce vecteur *a* des significations économiques, totalement inestimables quand il s'agit d'arbres forestiers.

3) Le problème fondamental posé par la sélection à partir de plusieurs populations est l'impossibilité actuelle de parler en termes de *prévision* : avec les méthodes évoquées dans cet article, le sélectionneur peut à la rigueur prédire ce que sera la valeur génétique moyenne des individus qu'il aura sélectionnés, mais il ne peut *en aucun cas prédire ce que sera la génération suivante* après croisements (contrôlés ou non) entre les sujets sélectionnés. En effet, si deux populations ont des

paramètres génétiques très différents, on ne peut aujourd'hui avoir une idée de ce que donneront des croisements entre individus de ces deux populations. La confrontation de deux matériels génétiques différents peut entraîner des phénomènes d'interaction dont le sens est imprévisible. Il est donc capital, si l'on veut créer des vergers à graines forestières multiprovenances dont l'intérêt par ailleurs est évident (NANSON, 1972) d'organiser des séries de croisements contrôlés intra- et inter-population afin d'estimer de nouveaux paramètres génétiques nécessaires aux problèmes de prévision (GALLAIS, 1978).

Reçu pour publication en mars 1979.

Summary

Strategies for index selection from several populations

For the selection of individuals to be used as parents for the next generation, it is recommended to mix individuals issued from various populations: thus the problems due to the classical method of intrapopulation selection would be possible to solve (for example, to keep an important genetic variability and to limit the degree of inbreeding between the selected parents).

Two selection strategies are discussed, both are multi-trait selection using information from the three levels of variability: population, half-sib family and individual.

— The first section assumes the hypothesis of equality, for all the populations, of the intrapopulation variance-covariance matrixes, and considers the population effect as random effect. The individual genetic values are estimated from phenotypic values of individuals and their relatives (half-sibs, population). An index is calculated as a linear combination of these estimations of genetics values for various traits. The coefficients of the linear combinations are chosen *a priori* by the breeder, in view of optimizing the mean genetic values of the selected individuals.

— The second section assumes no hypothesis about the population structure. The computation of an intrapopulation multi-trait combined individual-halfsib family index is made for each population. The general mean genetic value of all selected individuals is a ponderated mean of the intrapopulation mean genetic values. The coefficients of ponderation are the intrapopulation intensities of selection. They are calculated, as well as the coefficients of the intrapopulation index, in view of optimizing this general mean genetic value.

As an illustration, the two strategies are applied for two forest tree species.

The main problem is to estimate the progenies from interpopulation crosses.

Références bibliographiques

BECKER W. A., 1967. *Manual of procedures in quantitatives Genetics*, Washington State University, 2nd Ed.

BIROT Y., 1976. Genetics parameters variation between some populations of Douglas-Fir. *I.U.F.R.O. Advanced Generation Breeding*, Bordeaux, June, 1976.

CHRISTOPHE C., 1979. Index : Programme de calcul d'indices de sélection sur individus appartenant à des familles de demi-frères. *Doc. interne*, 1978/3.

CHRISTOPHE C., BIROT Y., 1979. Genetics variations within and between populations of Douglas-Fir. *Silvae Genetica* (sous presse).

CORSTEN L. C. A., GABRIEL F. R., 1976. Graphical exploration in comparing variance matrices *Biometrics*, **32**, 851-863.

GALLAIS A., 1978. Quelques réflexions sur les modèles actuels de la génétique quantitative et sur leur place en amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **28** (2), 141-148.

HERRENDORFER G., 1976. Gleichzeitige Selektion aus *k* Populationen. *Biom. Z. Bd.*, **18** (4), 319-325.

JAMES J. W., 1966. Selection from one or several populations. *Aust. J. Agric. Res.*, **17**, 583-589.

MALLARD J. 1972. La théorie et le calcul des index de sélection avec restrictions : synthèse critique. *Biometrics*, **28**, 713-735.

MALLARD J., 1976. Indice de sélection avec restriction. *Séminaire du Département de Génétique et Sélection Animale.*

NANSON A., 1972. The provenance seedling seed orchard. *Silvae Genetica*, **21** (6), 243-249.

ROUVIER R., 1969. *Contribution à l'étude des index sur plusieurs caractères.* Thèse 3e cycle, Fac. Sci. Paris.

ROUVIER R., 1977. Mise au point sur le modèle classique d'estimation de la valeur génétique. *Ann. Génét. Sélec. Anim.*, **9** (1), 17-26.

WOLFRAM H., TELLHELM E., GRIESS I., 1976. Ein Beispiel der gleichzeitigen Selektion aus mehreren Populationen bei Kartoffeln. *Arch. Züchtungsforsch.*, **6**, 5-14.

Annexe

Calcul des indices combinés population-famille-individu

Annexe 1

cas de 3 vecteurs prédicteurs

$$\widehat{\underline{G}}_{ijk} = \Sigma_{GP}\,\Sigma_{PP}^{-1} \begin{bmatrix} \underline{Y}_{ijk} - \underline{Y}_{ij.} \\ \underline{Y}_{ij.} - \underline{Y}_{i..} \\ \underline{Y}_{i..} - \underline{Y}_{...} \end{bmatrix}$$

Termes de la matrice Σ_{GP}

$$\begin{cases} E\,[\underline{G}_{ijk}\,\underline{Y'}_{ijk}] = \Sigma_G + \Sigma_A = \Sigma_p + 4\,\Sigma_F \\ E\,[\underline{G}_{ijk}\,\underline{Y'}_{ij.}] = \Sigma_G + \dfrac{n_{ij}+3}{4n_{ij}}\,\Sigma_A = \Sigma_p + \dfrac{n_{ij}+3}{n_{ij}}\,\Sigma_F \\ E\,[\underline{G}_{ijk}\,\underline{Y'}_{i..}] = \Sigma_p + \dfrac{n_{ij}+3}{n_{io}}\,\Sigma_F \\ E\,[\underline{G}_{ijk}\,\underline{Y'}_{...}] = \dfrac{n_{io}}{N}\,\Sigma_p + \dfrac{n_{ij}+3}{N}\,\Sigma_F \end{cases}$$

$$\Sigma_{GP} = E\,[\underline{G}_{ijk}[\underline{Y}_{ijk} - \underline{Y}_{ij.}]'\ \underline{G}_{ijk}[\underline{Y}_{ij.} - \underline{Y}_{i..}]'\ \underline{G}_{ijk}[\underline{Y}_{i..} - \underline{Y}_{...}]'\,]$$

$$\Sigma_{GP} = \left[\frac{3(n_{ij}-1)}{n_{ij}}\,\Sigma_F \quad (n_{ij}+3)\left(\frac{1}{n_{ij}} - \frac{1}{n_{io}}\right)\Sigma_F \quad \left(1 - \frac{n_{io}}{N}\right)\Sigma_p + \frac{n_{ij}+3}{n_{io}}\,\Sigma_F\right]$$

Termes de la matrice Σ_{PP}

$$\Sigma_{PP} = \begin{bmatrix} P_1 & 0 & 0 \\ 0 & P_2 & 0 \\ 0 & 0 & P_3 \end{bmatrix}$$

$$P_1 = E\,[\underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}}][\underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}}]' = \frac{n_{ij} - 1}{n_{ij}}\,\Sigma_W$$

$$P_2 = E\,[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{i..}}][\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{i..}}]' = k_1\Sigma_F + k_2\Sigma_W$$

$$P_3 = E\,[\underline{Y_{i..}} - \underline{Y_{...}}][\underline{Y_{i..}} - \underline{Y_{...}}]' = k_3\Sigma_P + k_4\Sigma_F + k_5\Sigma_W$$

avec :

$$k_1 = 1 + \sum_j \frac{n_{ij}^2}{n_{io}^2} - \frac{2n_{ij}}{n_{io}}$$

$$k_2 = \frac{1}{n_{ij}} - \frac{1}{n_{io}}$$

$$k_3 = 1 + \frac{\sum_i n_{io}^2}{N^2} - \frac{2n_{io}}{N}$$

$$k_4 = \frac{\sum_j n_{ij}^2}{n_{io}} + \frac{\sum_{ij} n_{ij}^2}{N^2} - 2\,\frac{\sum_j n_{ij}^2}{n_{io}N}$$

$$k_5 = \frac{1}{n_{io}} - \frac{1}{N}$$

$$k_6 = 1 - 2\,\frac{n_{ij}}{N} + \frac{\sum_{ij} n_{ij}^2}{N^2}$$

Annexe 2

cas de 2 vecteurs prédicteurs

$$\widehat{\underline{G}}_{ijk} = \Sigma_{GP}\Sigma_{PP}^{-1}\begin{bmatrix} \underline{Y_{ijk}} - \underline{Y_{ij.}} \\ \underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{...}} \end{bmatrix}$$

D'après les éléments calculés précédemment, on a :

- $\Sigma_{GP} = \left[\dfrac{3(n_{ij}-1)}{n_{ij}}\,\Sigma_F \quad \left(1 - \dfrac{n_{io}}{N}\right)\Sigma_P + (n_{ij}+3)\left(\dfrac{1}{n_{ij}} - \dfrac{1}{N}\right)\Sigma_F\right]$
- $\Sigma_{PP} = \begin{bmatrix} P_1 & 0 \\ 0 & P_4 \end{bmatrix}$

$$P_4 = E\,[\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{...}}][\underline{Y_{ij.}} - \underline{Y_{...}}]' = k_3\Sigma_P + k_6\Sigma_F + \left(\frac{1}{n_{ij}} - \frac{1}{N}\right)\Sigma_W$$

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 247-252.

Sur la production de vrilles, de fleurs et de baies, chez la Vigne cultivée *in vitro*

J.-M. FAVRE et S. GRENAN (*)

Laboratoire de Morphologie végétale expérimentale associé au C.N.R.S.
Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 91405 Orsay
(*) *A.N.T.A.V., Domaine de l'Espignette, 30240 Le Grau-du-Roi*

Résumé

L'utilisation d'un milieu enrichi en vitamines permet chez plusieurs cépages et porte-greffes l'obtention *in vitro* de vrilles et de fleurs. Celles-ci peuvent nouer et produire des baies.

La mise en culture *in vitro* de bourgeons prélevés sur des végétaux adultes croissant dans les conditions naturelles, donne naissance à des clones de plantes miniaturisées qui présentent des modifications morphologiques diverses. Celles-ci consistent essentiellement en une réapparition de traits caractéristiques de la phase de développement qui suit immédiatement la germination.

Ainsi, chez la Pomme de terre par exemple (GRENAN, 1976; NOZERAN *et al.*, 1977) ou chez le Dahlia (WATELET-GONOD et FAVRE, 1979), des feuilles entières habituellement propres aux jeunes semis se substituent aux feuilles composées du végétal adulte.

Ces modifications morphologiques sont une des manifestations des phénomènes de rajeunissement induits par la culture *in vitro* (NOZERAN et BANCILHON, 1972, 74; NOZERAN, 1978).

Chez la Vigne cultivée dans des tubes à essais sur un milieu minimum standard composé des macro-éléments de KNOP (*) dilués au demi et des oligo-éléments de BERTHELOT (1934) additionnés de 20 g/l de saccharose, le retour à un mode de fonctionnement juvénile se manifeste principalement par l'absence persistante de vrille. Le phénomène est observé régulièrement au laboratoire, aussi bien sur des

(*) Pour un litre d'eau bidistillée : nitrate de calcium 0,5 g, nitrate de potassium 0,125 g, sulfate de magnésium 0,125 g, phosphate monopotassique 0,125 g.

cépages que sur des porte-greffes, depuis plus de 15 années pour certains d'entre eux.

Toutefois sur ce milieu de culture, les plantes restent généralement assez grêles, peu vigoureuses, la surface d'une feuille oscillant autour d'une valeur moyenne de 1 cm^2.

L'utilisation de substrats nutritifs plus riches, contenant en plus des éléments minéraux et glucidiques du milieu standard un certain nombre de vitamines (*), confère aux plantes une plus grande vigueur. Mais, en outre, on observe des modifications qualitatives importantes du mode de fonctionnement juvénile enregistré jusqu'alors.

Celles-ci sont de deux ordres : apparition de vrilles et production de fleurs.

1. — L'apparition de vrilles

Quatre constatations peuvent être faites à ce propos :

a) La plupart des cépages que nous avons pu tester présentent le phénomène. Le tableau 1 en donne la liste et indique l'intensité approximative du phénomène. Il en va de même, des porte-greffes courants comme « Rupestris du Lot » ou « 196-17 Cl ».

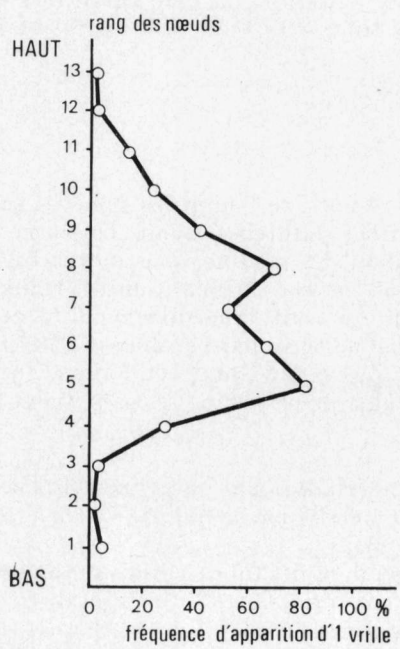


FIG. 1. — *Fréquence d'apparition de vrille aux différents niveaux de 132 plantes cultivées* in vitro (*cépage « Camaralet »*)

(*) Pour 1 litre de milieu : Thiamine 1 mg, pyridoxine 1 mg, acide nicotinique 1 mg, panthotenate de calcium 1 mg, meso-inositol 10 mg, biotine 0,1 mg.

TABLEAU I

Fréquences d'apparition de vrilles et de fleurs sur les différents cépages testés

Cépages	Présence de vrilles	Présence de fleurs
« Arbois »	++	
« Abouriou »	++	
« Arrufiac »	+	
« Cabernet Sauvignon »	+	
« Camaralet »	+++	+
« Carignan »	++	
« Carignane »	+	
« Chardonnay »	+++	+
« Chasselas »		
« Cinsaut »	+	
« Counoise »		
« Duras »	+++	+
« Grenache »	++	
« Grolleau »	++	
« Gamay »	+	+
« Jacquère »	++	
« Klevener »	+	
« Marsanne »	+	
« Melon »	+	
« Merille »	++	
« Mondeuse »	+	
« Muscardin »	++	
« Muscat de Frontignan »		
« Muscat de Hambourg »	+	
« Niellucio »	+++	+
« Pinot Meunier »	++	+ (MUR, 1978)
« Sauvignon »	+	
« Servant »	+	
« Terret »	+	
« Ugni-blanc »		
« Viognier »	++	++

Certaines exceptions marquantes doivent cependant être signalées « Counoise », « Ugni-blanc », « Muscat de Frontignan », « Chasselas », bien que cultivés dans les mêmes conditions que les autres cépages, sont jusqu'à présent toujours restés dépourvus de vrilles.

b) La présence de vrilles n'affecte pas tous les individus d'un clone déterminé. Un certain nombre de plantes en sont dépourvues, alors que par ailleurs, elles paraissent semblables aux autres.

La proportion de plantes restant ainsi sans vrille varie avec le cépage considéré. Chez « Camaralet », elle est généralement inférieure à 10 p. 100. Chez « Chardonnay », elle peut dépasser 30 p. 100.

c) Sur une même plante, tous les nœuds ne portent pas de vrille (fig. 1). Les nœuds inférieurs en sont généralement dépourvus, ainsi que ceux de la partie terminale. C'est dans la zone médiane, mise en place au moment où la croissance est la plus active, que les vrilles sont présentes.

Dans cette zone médiane, la distribution des nœuds portant une vrille n'est que rarement conforme à la séquence observée dans la plupart des cas en conditions naturelles, qui est de 2 nœuds avec vrille, 1 nœud sans vrille, 2 nœuds avec vrille, etc...

Les vrilles sont le plus souvent distribuées de façon erratique. La rythmicité naturelle de production des vrilles n'est donc pas acquise de façon stable dans les conditions de culture *in vitro* utilisées.

d) D'un repiquage à l'autre, il ne semble pas y avoir de transmission préférentielle de la présence de vrilles. Une plante issue d'une bouture avec vrille a autant de chances de porter des vrilles qu'une autre provenant d'une bouture sans vrille (tabl. 2).

Ces observations ont été réalisées sur quelques repiquages seulement. Des fluctuations à plus long terme ne peuvent pas être exclues *a priori*.

TABLEAU 2

Proportions relatives de plantes pourvues ou non de vrilles obtenues à partir de boutures possédant ou non des vrilles (Cépages « Camaralet »)

	Boutures avec vrille	Boutures sans vrille
Plantes obtenues pourvues d'au moins 1 vrille . . .	80 %	81 %
Plantes obtenues dépourvues de vrille	20 %	19 %

2. — La floraison (production d'inflorescences ou de fleurs isolées)

Ce phénomène est beaucoup moins fréquent que le précédent. Sur l'ensemble des cépages dont nous avons pu suivre le comportement *in vitro*, la présence de fleurs n'a pu être observée que dans 6 cas : « Camaralet », « Chardonnay », « Duras », « Gamay », « Niellucio », « Viognier ». A cette liste on peut ajouter « Pinot meunier » chez qui MUR (1978) a également observé la floraison *in vitro*.

Au sein de ces cépages, tous les clones ne se comportent pas de la même façon. Dans le meilleur des cas cependant, la production de fleurs est toujours inférieure à 1 p. 100 des individus. Les fleurs sont susceptibles de nouer et l'obtention *in vitro* de baies a été observée plusieurs fois (fig. 2).

Dans tous les cas, il s'agit d'une floraison spontanée, aucun traitement particulier n'ayant été appliqué aux boutures.

Deux remarques peuvent toutefois être faites :

a) Les fleurs apparaissent toujours au sein de clones qui produisent régulièrement des vrilles.

b) La présence de fleurs a toujours été observée sur des boutures enracinées dont le bourgeon, soit lesé lors du repiquage, soit spontanément avorté, n'a pas demarré.

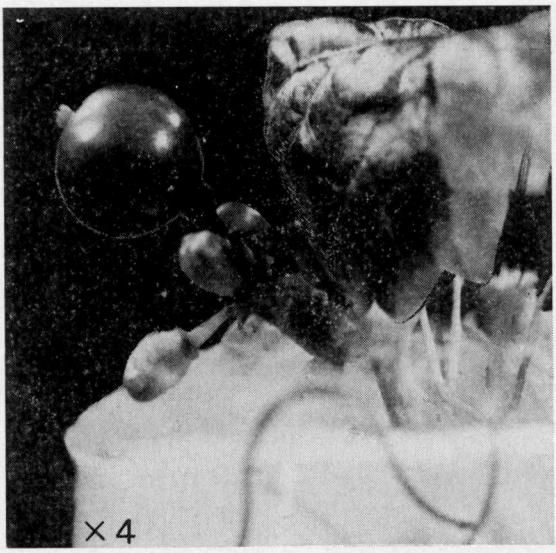


FIG. 2. — *Fleurs et baies obtenues* in vitro (*cépage « Camaralet »*).

3. — Discussion

Les observations présentées dans cette note montrent l'existence d'une certaine variabilité dans le mode de fonctionnement de la Vigne cultivée *in vitro*.

En effet, lorsque le milieu de culture utilisé est enrichi en vitamines, le mode de fonctionnement juvénile indéfiniment maintenu en conditions minimum de culture, évolue vers une phase nouvelle caractérisée par l'apparition de vrilles, de fleurs et même de baies dans les meilleurs cas.

Ces phénomènes paraissent étroitement liés à l'accroissement de la vigueur générale des plantes induit par les nouvelles conditions de culture et, même, à la vigueur de la portion de plante considérée, puisque l'apparition des vrilles se situe principalement au niveau des nœuds médians mis en place après la reprise au bouturage et avant que l'épuisement du milieu ne commence à se faire sentir.

De ce point de vue, nos observations recoupent tout à fait celles réalisées par MUR (1978) sur « Pinot meunier ».

La production de fleurs est étroitement liée à celle des vrilles, donc également à la vigueur. C'est d'ailleurs par forçage en culture hydroponique que HUGLIN et JULLIARD (1965) ont pu obtenir des floraisons précoces sur semis.

Cependant, l'examen des conditions dans lesquelles les fleurs apparaissent *in vitro* apporte des informations supplémentaires.

En effet, l'absence de développement axillaire, enregistrée dans tous les cas de floraison *in vitro* obtenus, peut laisser penser que la formation de fleurs résulte d'un isolement relativement précoce d'un nœud apte à produire une vrille et de la transformation ainsi provoquée de cet organe en son homologue morphologique, l'inflorescence.

SRINIVASAN et MULLINS (1978) ont d'ailleurs récemment obtenu la produc-

tion d'inflorescences à partir de vrilles isolées, cultivées *in vitro* et traitées par la benzyl-aminopurine, ce qui concorde tout à fait avec cette interprétation.

On est alors conduit à penser que le contrôle des phénomènes de floraison *in vitro* chez la Vigne, dépend de la maîtrise complète de la production des vrilles, et en particulier de l'obtention d'une distribution régulière de ces organes dans ces mêmes conditions de culture.

La résolution de ce problème permettrait d'isoler précocement de façon assurée des nœuds potentiellement porteurs de vrille et rendrait possible l'expression d'une aptitude à la floraison qui *in vitro* reste masquée au cours du développement normal de la plante.

Des possibilités expérimentales originales, concernant tant la physiologie, en particulier le déterminisme de la mise à fleur, que l'amélioration de la plante par des voies génétiques, seraient ainsi réunies.

Reçu pour publication en avril 1979.

Summary

In vitro *production of tendrils, flowers and berries on Grape*

Grape plants grown *in vitro* on a low minimum medium keep indefinitely juvenile characters such as the lack of tendrils.

When the medium is complemented with vitamins, a new way of working appears in the plant. Tendrils, flowers and sometimes berries can be produced.

These results give original, new, possibilities for physiological and genetical studies of the plant.

Références bibliographiques

BERTHELOT A., 1934. Nouvelles remarques d'ordre chimique sur le choix des milieux de culture naturels et sur la manière de formuler les milieux synthétiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **16**, 1553-1557.

GRENAN S., 1976. *Analyse de phénomènes morphogénétiques posés par la multiplication végétative* in vitro *de la pomme de terre.* Thèse Orsay, 77 pages.

HUGLIN P., JULLIARD B., 1965. Observations concernant la phase juvénile chez la Vigne. *Bull. Soc. Fr. Physiol. vég.*, **11**, 80-84.

NOZERAN R., BANCILHON L., 1972. Les cultures *in vitro* en tant que technique d'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 167-185.

NOZERAN R., BANCILHON L., 1974. Multiplication végétative chez les végétaux vasculaires. *Colloque « La multiplication végétative chez les Végétaux »*, Orsay (France). *Mem. Soc. bot. Fr.*, 1978 (sous presse).

NOZERAN R., BANCILHON-ROSSIGNOL L., GRENAN S., 1977. Nouvelles possibilités d'obtention et de multiplication rapide de clones de pomme de terre (*Solanum tuborosum* L.). *C. R. Acad. Sc.*, Paris, **285**, 37-40.

NOZERAN R., 1978. Polymorphisme des individus issus de la multiplication végétative des végétaux supérieurs, avec conservation du potentiel génétique. *Physiol. vég.*, **16**, 177-194.

MUR G., 1978. Obtention de vrilles et de baies chez *Vitis vinifera* en culture *in vitro*. *Prog. Agric. Vitic.*, 609-611.

SRINIVASAN C., MULLINS M. G., 1978. Control of flowering in the grapevine (*Vitis vinifera*). Formation of inflorescences *in vitro* by isolated tendrils. *Plant Physiol.*, **61**, 127-130.

WATELET-GONOD M. C., FAVRE J. M., 1979. Miniaturisation et rajeunissement chez le *Dahila* cultivé *in vitro*. *Ann. Sci. nat. Bot.* (sous presse).

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 253-266.

Compétition pollinique chez des mutants nucléaires de Tabac induits par le rayonnement Gamma (*)

I. S. SINGH et H. L. DULIEU

Laboratoire de Mutagenèse,
Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches de Dijon, I.N.R.A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

Résumé

Une délétion « a_1^0 » englobant au moins une partie du gène a_1^+ du Tabac, localisé sur le chromosome *R* se transmet avec un certain déficit lorsqu'elle est apportée par le pollen. Le coefficient de sélection gamétophytique s_γ a été estimé dans une F_2 d'un double hétérozygote pour les loci a_1^+/a_1^0 a_2^+/a_2 et dans les différents génotypes ségrégeant de cette F_2.

La valeur de s_γ dépend du génotype du sporophyte puisque $\hat{s}_\gamma = 0{,}58$ en présence de a_2/a_2 mais n'est que $\hat{s}_\gamma = 0{,}19$ en présence de a_2^+/a_2^+. De même on a $\hat{s}_\gamma = 0{,}61$ en présence de a_1 et $\hat{s}_\gamma = 0{,}19$ en présence de a_1^+. Il y a donc un effet favorable important de la situation normale sur le chromosome partiellement homéologue S, et aussi de la forme allélique normale de la délétion (a_1^+ ou a_1) sur le chromosome *R*.

La valeur de s_γ ne dépend pas de la fertilité pollinique estimée par le test ALEXANDER mais elle peut différer significativement entre les individus d'un même génotype.

Le déficit observé peut être expliqué par une compétition pollinique (certation) en faveur des grains non porteurs de cette délétion, mais pouvant transmettre une mutation défavorable a_1 à ce même locus.

Ces observations permettent de tirer au moins deux enseignements importants dans la recherche de mutants après traitement mutagène : l'obtention de mutations ponctuelles ou non dans un contexte le plus isogénique possible avec le matériel d'origine est subordonnée : 1) à l'utilisation de doses faibles auxquelles la fréquence des cellules portant plus d'une mutation devient petite et 2) à leur isolement par croisements récurrents avec le matériel d'origine comme parent femelle.

Introduction

Le génotype $a_1^+/a_1 a_2^+/a_2$, défini antérieurement chez le Tabac (var. *Xanthi* n.c.) (DULIEU *et al.*, 1971; DALEBROUX et DULIEU, 1974; DULIEU et DALEBROUX, 1976), de couleur jaune-vert ($J^1_.$) montre des variations vertes, jaunes ou jumelées

(*) Cet article fait partie de la thèse de Doctorat -ès-Sciences de I.S. SINGH soutenue à Dijon le 15 avril 1977, intitulée « *Contribution à l'étude des effets des traitements mutagènes conduisant à la stérilité pollinique chez le Pétunia et le Tabac* ».

dans le parenchyme foliaire. La fréquence de ces variations augmente avec la dose de rayonnement gamma appliqué aux ébauches foliaires (DULIEU et DALEBROUX, 1975). Un échantillon de ces tissus variants a été cultivé *in vitro* et régénéré en plantes pour l'étude génétique. Parmi les variations jaunes, une (J^3_{24}) (DULIEU, 1974) a donné lieu à la formulation d'une hypothèse de délétion englobant le tout ou une partie du gène a_1^+, donnant naissance à un génotype $a_1/a_1^0\ a_2^+/a_2$; selon l'hypothèse, cette délétion serait transmise à la descendance mais une létalité partielle des génotypes a_1^0/a_1^0 dans la descendance d'autofécondation expliquerait l'écart observé par rapport aux proportions mendéliennes. L'estimation d'un coefficient de sélection, s_w contre le génotype a_1^0/a_1^0 a donc été faite; le déficit de porteurs de a_1^0/a_1^0 atteint une proportion située entre 0,4 et 0,6. L'hypothèse d'une létalité gamétique partielle n'avait pas été retenue en 1974 parce que les ségrégations observées en rétrocroisements par les testeurs ne différaient pas des ségrégations mendéliennes; les testeurs avaient toujours été utilisés comme parents mâles.

Un résultat extrême, inexplicable par la sélection zygotique nous a amenés à l'hypothèse de la sélection gamétophytique : Une plante de phénotype vert (V) et de génotype $a_1^+a_1^0\ a_2^+/a_2$, issue du croisement entre le variant J^3_{24} et la variété originelle *Xanthi* n.c. a fourni parmi les ségrégeants de son autofécondation une

TABLEAU I

	V	J^1	$J^{3,4}$	α	Total	χ^2
J^1_9 autofécondé	500	173	—	0	673	1 : 2 : 1**
$J^1_9 \times a_1/a_1$	—	555	342	—	897	1 : 1**
$a_1/a_1 \times J^1_9$	—	500	0	—	500	1 : 1**
$J^1_9 \times a_1^+a_1^+$	500	—	—	—	500	
$J^1_9 \times a_2/a_2$	129	41	—	—	170	1 : 1**

plante albinos dont l'épiderme avait un phénotype jaune-vert (J^1_9). Le génotype de cette couche jaune-vert a été déterminé après néoformation de bourgeons et régénération en plantes entières. Les résultats des tests sont donnés dans le tableau 1.

En observant les résultats particulièrement nets des croisements réciproques avec le testeur a_1/a_1, on a donc été conduit à envisager l'hypothèse d'une sélection gamétophytique empêchant *totalement* la transmission du gamète $a_1^0a_2$ par la voie pollinique alors que cette transmission n'est que fortement réduite par la voie maternelle.

Se basant sur ces tests génétiques, on devait donc admettre que le génotype de tissu J^1_9 est nécessairement $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$ tout en supposant que sa *délétion* a_1^0 devait recouvrir une région différente de celle recouverte par la délétion initiale du variant J^3_{24}. En effet, cette dernière possède une transmission normale par la voie maternelle et partielle par la voie pollinique, puisqu'on a observé des ségrégeants albinos dans la descendance autofécondée de J^3_{24}, comme dans l'autofécondation des descendants verts de ce variant de génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$, alors que J^1_9 ne présente jamais d'albinos dans sa descendance en autofécondation.

L'hypothèse de la sélection pollinique a donc été testée après estimation d'un coefficient s_γ de sélection gamétique dans les descendances des croisements

réciproques entre porteurs et non porteurs de a_1^0. De plus, la constance de ce coefficient dans un génotype donné et l'effet du génotype aux loci $a_1^+ — a_1 — a_1^0$ et $a_1^+ — a_2$ sur sa valeur ont été suivis pendant quatre générations.

Matériel et méthodes

On a étudié une population F_2 issue du génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ depuis le semis jusqu'à la détermination des génotypes par croisement avec le testeur $a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+$ (appelé T dans les tableaux).

Le génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ donne effectivement les catégories phénotypiques et génotypiques suivantes par autofécondation (tabl. 2).

TABLEAU 2

Gamètes	$a_1^+a_2^+$	$a_1^+a_2$	$a_1^0a_2^+$	$a_1^0a_2$
$a_1^+a_2^+$	$V^{(1)}$	$V^{(2)}$	$V^{(3)}$	$V^{(5)}$
$a_1^+a_2$	$V^{(2)}$	$V^{(4)}$	$V^{(5)}$	J^{1-1}
$a_1^0a_2^+$	$V^{(3)}$	$V^{(5)}$	$V^{(6)}$	J^{1-3}
$a_1^0a_2$	$V^{(5)}$	J^{1-1}	J^{1-3}	α

où V : Correspond à la couleur normale des feuilles; les exposants se rapportant aux génotypes différents.
J^{1-1} : Correspond à une couleur jaune-vert.
J^{1-3} : Correspond à une couleur jaune et à des feuilles lancéolées.
α : Correspond à la couleur blanche (plantules albinos non viables).

Il y a donc six génotypes différents correspondant à un phénotype vert. Le testeur $a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+$ permet de les distinguer, ainsi que les phénotypes jaunes, selon le type de ségrégation observé (tabl. 3).

TABLEAU 3

Gamètes testés / Gamètes testeurs	$a_1^+a_2^+$	$a_1^+a_2$	$a_1^0a_2^+$	$a_0^1a_2$
$a_1a_2^+$ (T)	v	J^1	J^{1-2}	J^3

Le génotype $a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2^+$ [$V^{(1)}$] (« sauvage ») donne après croisement avec T une descendance homogène vert clair (*v*); le génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ [$V^{(5)}$] donne quatre types de ségrégeants (v, J^1, J^{1-2} et J^3).

Après le même croisement, les génotypes $a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2$ [$V^{(2)}$] et $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ [$V^{(3)}$] (groupe A) donnent tous deux une ségrégation de plantules v et Jaune-

Vert (J^1 et J^{1-2}). Les génotypes $a_1^+/a_1^+\ a_2/a_2$ [V(4)] et $a_1^0/a_1\ a_2^+/a_2^+$ [V(6)] (groupe B) donnent tous deux une descendance homogène quant au phénotype (J^1 ou J^{1-2}). Les génotypes $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$ [J^{1-1}] et $a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2$ [J^{1-3}] (groupe C) donnent tous deux une ségrégation $J^1 + J^{1-2}{:}J^3$.

La distinction entre les trois paires de génotypes entre lesquels il y a ambiguïté se fait à la génération suivante (F_2) qui ségrégera d'une manière di- et monofactorielle. On a déterminé la fertilité pollinique de chaque plante F_2 arrivée à la floraison par observation du pollen de deux fleurs par plante après coloration avec la solution d'ALEXANDER (1969).

Résultats

1. — *Ségrégation phénotypique des porteurs de* a_1^0 *et estimation du coefficient* s_γ *de sélection contre le pollen* a_1^0

Sur la base de l'hypothèse d'une sélection zygotique contre les génotypes a_1^0/a_1^0, l'estimation de s_w, représentant la proportion de zygotes a_1^0/a_1^0 éliminés, a été faite par la méthode du maximum de vraisemblance à partir d'une population autofécondée d'une plante verte $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ (V_2^5) comprenant 312 plantes vertes (n_1), 86 plantes jaune-vert (n_2) et 16 albinos (n_3) (DULIEU, 1974, tabl. 7). On a une valeur de $\hat{s}_w = 0{,}489 \pm 0{,}147$. Il s'agit maintenant de calculer une estimation de s_γ d'après une hypothèse de sélection gamétophytique contre le pollen a_1^0, avec les mêmes données, qui représente la proportion de pollen a_1^0 perdue entre le stade tétrade et l'arrivée des tubes polliniques aux ovules.

Les fréquences théoriques d'après un tel modèle dans la même population autofécondée figurent au tableau 4.

Les fréquences théoriques des trois phénotypes (vert, jaune-vert et blanc) sont respectivement :

$$\frac{11 - 4s}{8(2 - s)}, \qquad \frac{4 - 3s}{8(2 - s)}, \qquad \frac{1 - s}{8(2 - s)}$$

TABLEAU 4

Gamètes ♂		$a_1^+a_2^+$	$a_1^+a_2$	$a_1^0a_2^+$	$a_1^0a_2$
♀	fréq. ♂ / ♀	$\frac{1}{2(2-s)}$	$\frac{1}{2(2-s)}$	$\frac{1-s}{2(2-s)}$	$\frac{1-s}{2(2-s)}$
$a_1^+a_2^+$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8(2-s)}$	$\frac{1}{8(2-s)}$	$\frac{1-s}{8(2-s)}$	$\frac{1-s}{8(2-s)}$
$a_1^+a_2$	$\frac{1}{4}$	id.	id.	id.	id.
$a_1^0a_2^+$	$\frac{1}{4}$	id.	id.	id.	id.
$a_1^0a_2$	$\frac{1}{4}$	id.	id.	id.	id.

TABLEAU 5

Ségrégation génotypique d'une plante $a_1^+/a_1^0 a_2^+/a_2$ *autofécondée*

GÉNOTYPES	$\frac{a_1^+}{a_1^+}\frac{a_2^+}{a_2^+}$	$\frac{a_1^+}{a_1^+}\frac{a_2^+}{a_2}$	$\frac{a_1^+}{a_1^0}\frac{a_2^+}{a_2^+}$	$\frac{a_1^+}{a_1^+}\frac{a_2}{a_2}$	$\frac{a_1^+}{a_1^0}\frac{a_2^+}{a_2}$	$\frac{a_1^0}{a_1^0}\frac{a_2^+}{a_2^+}$	$\frac{a_1^+}{a_1^0}\frac{a_2}{a_2}$	$\frac{a_1^0}{a_1^0}\frac{a_2^+}{a_2}$	$\frac{a_1^0}{a_1^0}\frac{a_2}{a_2}$	TOTAL N_t
Phénotype	Vert (1)	Vert (2)	Vert (3)	Vert (4)	Vert (5)	Vert (6)	J^{1-1}	J^{1-2}	α	
Effectif observé (n_i)	16	29	36	18	60	11	30	non observé	9	209
$E(f_i)$	$\frac{1}{8(2-s)}$	$\frac{2}{8(2-s)}$	$\frac{2-s}{8(2-s)}$	$\frac{1}{8(2-s)}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1-s}{8(2-s)}$	$\frac{1}{8}$	—	$\frac{1-s}{8(2-s)}$	$1-\frac{2(1-s)}{8(2-s)}$
$E(n_i)$	19,3	38,6	28,4	19,3	56,8	9,1	28,4	—	9,1	209

Étant donné $\hat{s}_Y = 0{,}530$ estimé j partir de la ségrégation phénotypique de l'expérience 1, on obtient : $x_7^2 = 5{,}74$ NS.

La fonction de vraisemblance s'écrit :

$$L = \left(\frac{N}{n_1,\ n_2,\ n_3}\right) \left[\frac{11 - 4s}{8(2-s)}\right]^{n_1} \left[\frac{4-3s}{8(2-s)}\right]^{n_2} \left[\frac{1-s}{8(2-s)}\right]^{n_3}$$

où n_1, n_2 et n_3 sont les nombres observés correspondants et N l'effectif total observé.

En appliquant la méthode du maximum de vraisemblance, on obtient :

$$\hat{s}_\gamma = 0.530 \pm 0.113$$

Le test χ^2 avec un degré de liberté devient non significatif.

2. — *Étude d'une nouvelle population F_2 par tests génétiques*

Deux cents plantes vertes et jaune-vert ont été élevées depuis le semis en boîtes de Pétri jusqu'à maturité. Elles ont subi le test génétique consistant en un croisement avec la lignée J^2 ($a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+$) (*voir* « *Méthodes* »). Neuf plantules albinos sont apparues dans cette ségrégation ainsi qu'un nombre indéterminé, proche de 20, plantes jaune-vert très peu vigoureuses, correspondant très probablement à J^{1-3} ($a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2$). Ces plantes n'ont pas vécu jusqu'à la floraison.

L'apparition à la génération suivante en croisement avec T de plantes J^1 et/ou J^{1-2} a permis de compléter la classification génotypique de cette F_2. Le tableau 5 présente le résultat de cette classification confronté aux fréquences théoriques, compte tenu de l'hypothèse de sélection gamétophytique contre le pollen a_1^0. Les nombres espérés sont calculés en admettant que la valeur de $\hat{s}_\gamma$ est constante dans tous les génotypes polliniques et qu'elle est égale à 0,53 comme dans l'expérience précédente. Le test χ^2 est non significatif, ce qui constitue un argument très convaincant à l'appui de l'hypothèse de sélection gamétophytique et une preuve de la bonne estimation du coefficient s_γ.

3. — *Comparaison des valeurs de $\hat{s}_\gamma$ dans les différents génotypes de la F_2*

Chaque génotype a été déterminé par testcross avec la lignée $a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+$, effectué dans les deux sens du croisement. Le tableau 6 présente les résultats obtenus avec les 195 plantes testées.

a) Tous les croisements avec la lignée $a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+$ prise comme mâle donnent des ségrégations conformes à l'hypothèse mendélienne simple.

b) Tous les croisements avec un porteur de a_1^0 pris comme mâle donnent des ségrégations avec un déficit hautement significatif de plantes porteuses de a_1^0.

Ces faits confirment la nature gamétophytique mâle de la sélection contre a_1^0 (sélection pollinique).

c) Les valeurs $\hat{s}_\gamma$ semblent différer fortement d'un génotype à l'autre; de plus les ségrégations obtenues sont hétérogènes entre les plantes d'un même génotype.

Le tableau 7 montre que le pollen a_1^0 fourni par le génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ a un coefficient $\hat{s}_\gamma$ très significativement inférieur à celui du pollen des génotypes $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ et $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$.

TABLEAU 6

Tabac. — Résultats globaux des tests génétiques par genotype et avec croisement réciproque

Croisements (♀ × ♂)	Nombre de plantes testées	Phénotypes			Hypothèse	χ^2	Coefficient de sélection (s) contre a_1^0
		V	J^1	J^4			
$a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2^+ \times T$ (1) . .	16	2 135	—	—	—	—	—
$T \times a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2^+$		1 984	—	—	—	—	—
$a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2 \times T$	29	2 165	2 110	—	1 : 1	NS	0
$T \times a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2$		2 400	2 364	—	1 : 1	NS	0
$a_1^+/a_1^0\ a_1^+/a_2^+ \times T$	36	2 758	2 727	—	1 : 1	NS	
$T \times a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$		3 000	2 438	—	1 : 1	**	0,1873 ± 0,0168
					homogénéité	**	
$a_1^+/a_1^+\ a_2/a_2 \times T$	18	—	2 750	—	—	—	—
$T \times a_1^+/a_1^+\ a_2/a_2$		—	2 694	—	—	—	—
$a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2 \times T$	60	8 091	(V + J^1)	2 810	3 : 1		
$T \times a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$		7 969	(V + J^1)	1 428	3 : 1	**	0,5634 ± 0,0095
					homogénéité	**	
$a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2^+ \times T$	11	—	1 650	—	—	—	—
$T \times a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$		—	1 795	—	—	—	—
$a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2 \times T$	25	—	1 949	1 960	1 : 1	NS	0
$T \times a_2^+/a_1^0\ a_2/a_2$		—	2 721	1 129	1 : 1	**	0,5851 ± 0,0132
					homogénéité	**	

(1) T est le testeur $a_1/a_1 a_2^+/a_2^+$.

TABLEAU 7

Tabac. — Comparaison des coefficients de sélection contre a_1^0 *chez des pères de génotypes différents (tabl. 6)*

Comparaison	Différence entre les coefficients de sélection
$a_1^+/a_1^0\ a^+/a_2^+$ VS $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$	$\lvert 0{,}1873 - 0{,}5634 \rvert = 0{,}3761$**
$a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ VS $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$	$\lvert 0{,}1873 - 0{,}5851 \rvert = 0{,}3978$**
$a^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ VS $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$	$\lvert 0{,}5634 - 0{,}5851 \rvert = 0{,}0217$ NS

N.B. : Chaque comparaison a été testée sur la base d'une hypothèse de normalité (test Z).

TABLEAU 8

Coefficients de sélection contre a_1^0 chez les plantes J^1 de génotypes $a_1^0/a^1\,a_2^+/a_2^+$ obtenues par recroisement

PHÉNOTYPE AUTOFÉCONDÉ	PHÉNOTYPES		HYPOTHÈSE	χ^2	COEFFICIENT DE SÉLECTION $(\widehat{s})$ contre a_1^0	EFFECTIF PLANTES J^{1-2}
	V	$J^{1-3}+J^2$				
$[a_1^+/a_1^0\,a_2^+/a_2^+ \times a_1/a_1\,a/{}^+_2a_2^+]J^{1-2}$	1 201	7 306	1:3 (1)	**	$\widehat{s}_1 = 0{,}6065 \pm 0{,}015$	36
			Homogénéité	**		
$[a_1^0/a_1^0\,a_2^+/a_2^+ \times a_1/a_1\,a_2^+/a_2^+]J^{1-2}$	332	2 147	1:3	**	$\widehat{s}_2 = 0{,}6342 + 0{,}025$	11
			Homogénéité (2)	*		

Le test z pour $H_0 : s_1 = s_2$ est non significatif.

(1) Hypothèse de ségrégation 1:3 mendélienne (H_0:$s\gamma = 0$).
(2) Test de l'homogénéité de la ségrégation entre les plantes.

4. — *Comparaison des coefficients* $\hat{s}_\gamma$ *contre* a_1^0 *chez les plantes* J^{1-2} *de génotype* $a_1/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ *provenant des testcrosses par T* $(a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+)$

Comme nous l'avons précisé au paragraphe « Matériel et Méthodes », il existe trois groupes (A, B et C) de deux génotypes qui ne peuvent être distingués ni par leur phénotype, ni par le test cross, car ils donnent les mêmes phénotypes en ségrégation. Ils peuvent cependant être reconnus grâce à la sélection contre a_1^0 qui s'opère dans l'un des cas. Il est cependant préférable de distinguer ces génotypes par le génotype des plantes J^1 de leur descendance qui seront $a_1^+/a_1\ a_2^+/a_2$ (J^1) ou $a_1/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ (J^{1-2}).

Ces trois groupes de deux génotypes sont $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ et $a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2$ (groupe A), $a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ et $a_1^+/a_1^+\ a_2/a_2$ (groupe B), $a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ et $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$ (groupe C), donnant, après croisement avec $a_1/a_1\ a_2^+/a_2^+$ respectivement soit des ségrégeants $a_1/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ (J^{1-2}) soit $a_1^+/a_1\ a_2^+/a_2$ (J^1). Le troisième groupe n'a pas été étudié parce qu'aucune plante $a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2$, reconnaissable à la forme des feuilles, n'est arrivée à maturité.

Le tableau 8 présente les estimations de s_γ obtenues après autofécondation des plantes J^{1-2} issues respectivement des BC_1 des génotypes des groupes A et B porteurs de a_1^0. On avait observé que le génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ avait fourni du pollen a_1^0 à $\hat{s}_\gamma$ très faible (tabl. 6 et 7) tandis que $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$ et $a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$ avaient fourni des valeurs de $\hat{s}_\gamma$ élevées. Or les plantes J^{1-2} issues de ce génotype $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$ à valeur $\hat{s}_\gamma$ faible, retrouvent une valeur $\hat{s}_\gamma$ identique à celles des plantes J^{1-2} d'autre origine. Ceci montre que le coefficient $\hat{s}_\gamma$ varie en fonction du génotype producteur du pollen.

Cependant, si l'on compare les plantes entre elles par un χ^2 d'homogénéité sur les nombres de ségrégeants, on trouve que les plantes sont hétérogènes entre elles. Cette constatation semble indiquer que la ségrégation pourrait aussi être influencée par les conditions de milieu.

5. — *Comparaison de la fertilité pollinique des différents génotypes de la* F_2

La détermination de la fertilité a été faite par un test ALEXANDER sur 3×200 grains de pollen par fleur, sur deux fleurs par plante, sur toutes les plantes de chaque génotype. Le tableau 9 présente l'analyse de variance : il y a un effet

TABLEAU 9

Tabac. — Analyse de variance de la fertilité pollinique pour cent (après transformation angulaire) chez les génotypes issus d'une plante $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$. *Plan factoriel à modèle fixé*

Source de variation	dl	CM
Génotypes	6	290,27**
Erreur	188	81,30
Total	195	

TABLEAU 10

Tabac. Classification des fertilités polliniques moyennes pour cent (non transformée) des génotypes F_2 issus d'une plante $a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$. *Classification basée sur toutes les comparaisons par le test « t »)*

Génotypes	$a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$	$a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2$	$a_1^+/a_1^0\ a_2^+/a_2$	$a_1^0/a_1^0\ a_2^+/a_2^+$	$a_1^+/a_1^+\ a_2^+/a_2^+$	$a_1^+/a_1^+\ a_2/a_2$	$a_1^+/a_1^0\ a_2/a_2$
Fertilité pollinique moyenne pour cent	62,03	65,30	66,87	69,09	70,22	71,27	78,06
Valeur $\hat{s}$	0,19	0,0	0,56	indét.	0,0	0,0	0,58

hautement significatif du génotype sur la fertilité. Il est donc nécessaire de comparer les génotypes entre eux : le tableau 10 présente le classement obtenu. Les fertilités des génotypes se répartissent avec une amplitude de 16 p. 100. Cependant, les trois groupes obtenus se chevauchent nettement et il ne semble y avoir d'effet génotypique ni du locus a_1^+-a_1^0 ni du locus a_2^+-a_2. Les différences observées semblent donc sans relation avec le coefficient observé dans certains génotypes.

On peut donc penser que dans les cas où $\hat{s}_\gamma$ est maximum (0,58), on devrait trouver au maximum une perte de fertilité pollinique de l'ordre de 25 p. 100 puisque $\hat{s}_\gamma$ ne s'applique qu'à la moitié des gamètes produits par l'hétérozygote. Or, aucune différence de ce type n'est observée. Le déficit de génotype porteurs de a_1^0 d'origine paternelle ne peut donc être dû à une létalité gamétophytique partielle du pollen porteur de a_1^0.

Discussion et conclusion

On peut résumer les faits comme suit :

a) Le déficit de génotypes porteurs de a_1^0, modification survenue somatiquement, n'est pas dû à une létalité zygotique puisque ce déficit n'est observé que lorsque a_1^0 est transmis par le pollen.

b) Il ne semble pas non plus qu'il y ait létalité gamétophytique puisque la fertilité pollinique, estimée par le test de coloration par la méthode d'ALEXANDER, est normale même lorsque tous les grains sont porteurs de a_1^0.

c) Entre les plantes d'un même génotype, la valeur de $\hat{s}_\gamma$ fluctue de manière significative comme le montrent les χ^2 d'homogénéité (tabl. 8). Il y a donc une composante de variabilité non contrôlable modifiant la valeur génotypique de s_γ.

d) Il y a un très net effet du génotype sporophytique au loci étudiés (a_1^+-a_1-a_1^0 et a_2^+-a_2) sur le déficit de transmission de a_1^0. Ainsi, le déficit de transmission (s_γ) est estimé à 0,58 en présence de a_2/a_2 et n'est que de 0.19 en présence de a_2^+/a_2^+ (d_1). De même, il est de 0,19 en présence de a_1^+ et a_2^+/a_2^+ mais de 0,61 en présence de $a_1a_2^+/a_2^+$ (d_2).

Étant donné les faits relevés aux points *a*, *b* et *c*, on peut proposer l'hypothèse selon laquelle le déficit de génotypes porteurs de a_1^0 est due à une compétition entre les pollens a_1^+ et a_1^0. La valeur sélective ($1 - s_\gamma$) plus faible de a_1^0 peut être due à une aptitude moindre à féconder le sac embryonnaire, donc à une vitesse de croissance plus petite du tube pollinique. Selon l'observation *d*) le pollen $a_1^0a_2^+$ possède une valeur sélective meilleure que celle de $a_1^0a_2$ en présence de $a_1^+a_2^+$ ou $a_1^+a_2$; de même, $a_1^0a_2^+$ est meilleur en présence de $a_1^+a_2^+$ qu'en présence de $a_1a_2^+$. La première de ces deux observations (d_1) s'ajoute aux arguments déjà développés ailleurs (DULIEU, 1975) en faveur de l'hypothèse d'une homéologie entre les régions des chromosomes R et S liées aux loci a_1^+ et a_2^+. En effet, on peut imaginer que si le pollen $a_1^0a_2$ est très désavantagé, c'est qu'il ne possède plus certains gènes, liés à a_2^+ ou a_1^+, qui interviendraient au cours de la croissance du gamétophyte mâle. Le pollen $a_1^0a_2^+$ aurait un comportement presque normal car le chromosome S, intact, complémente la délétion a_1^0.

La deuxième observation (d_2) n'est pas expliquée clairement, mais ce fait est favorable à l'hypothèse déjà formulée ailleurs sur la nature fine de la mutation a_1.

Après traitement mutagène, on observe fréquemment en M_2 ou en croisement sauvage × mutant un déficit de transmission du caractère muté initialement. La transmission peut être normale dans le croisement mutant × sauvage. Dans les générations ultérieures, on peut trouver des mutants dont la transmission est normale. L'exemple étudié ici permet de formuler l'hypothèse selon laquelle beaucoup de cellules mutées possèdent, en plus du caractère simple qui a servi à cribler la mutation, des modifications liées à des altérations du chromosome porteur de cette mutation telles que sa transmission devienne faible. Dans le cas où la mutation peut être séparée de cette (ces) modification(s) par recombinaison, on peut s'attendre à ce que la transmission de la mutation devienne normale.

Par ailleurs, le fait qu'il y ait effet maternel sur le taux de transmission n'est pas, ici, une indication de l'influence éventuelle du cytoplasme dans ce processus, mais le reflet des exigences génétiques différentes des programmes de différenciation des gamétophytes mâles et femelles. Le premier doit subir une étape d'indépendance au cours de sa dissémination et de sa croissance dans le style; ceci entraîne une compétition (certation) qui n'existe pas entre les gamétophytes femelles, ou une létalité totale du gamétophyte mâle. On peut comme dans l'introduction, observer des mutations qui ne sont pas du tout transmises par le pollen alors que l'on obtient leur transmission par l'ovule avec un déficit plus ou moins important selon le génotype zygotique (DULIEU, 1974, tabl. 8).

Des déviations par rapport aux proportions mendéliennes peuvent donc être très importantes dans le cas des porteurs de mutations induites. Ces déviations peuvent être le résultat d'une mauvaise aptitude à la croissance gamétophytique des pollens porteurs de mutations par rapport au pollen normal. Elles peuvent aussi résulter d'une létalité embryonnaire totale à l'état homozygote ou partielle à l'état hétérozygote.

L'exemple étudié ici et antérieurement (DULIEU, 1974) montre que toutes ces possibilités peuvent être observées avec un même système génétique.

On peut rapprocher ce cas des mutations au locus t^+-t-T chez la Souris (YANAGISAWA *et al.*, 1961 et nombreux autres travaux) :

1. Le déficit de génotypes porteurs de T, par rapport à t, s'observe par voie paternelle seulement (1:19,8 au lieu de 1:1).

2. La variabilité du sperme est normale.

3. La proportion T:t peut changer d'un allèle t à un autre, et parfois, pour un même allèle, d'un mâle à l'autre.

4. La proportion T:t peut être modifiée en retardant plus ou moins la copulation par rapport à l'ovulation.

5. La plupart des allèles t entraînent la létalité embryonnaire à l'état homozygote.

Les caractéristiques 1, 2, 3 et 5 se retrouvent avec le locus a_1^+-a_1-a_1^0. Il convient maintenant de chercher à modifier la valeur de s_γ par une pollinisation limitante, éventuellement en présence d'un allopollen « mentor » non fécondant.

Contrairement aux mutations T, à mode d'action semi-dominant on a observé parmi les mutations isolées englobant le locus a_1 que seules les mutations à mode d'action récessif présentent un déficit de ségrégation vis-à-vis du chromosome normal alors que les mutations à mode d'action semi-dominant n'ont manifesté que des ségrégations régulières.

Le mode d'action du complexe muté ne semble donc pas orienter nécessaire-

ment la compétition en faveur du complexe non muté. Des « gènes » aux effets létaux à l'état homozygotes mais déjà très délétères à l'état hétérozygote peuvent donc, comme les allèles t^w chez la Souris, subsister longtemps dans les populations naturelles grâce à leur valeur sélective gamétique élevée alors que des gènes létaux ou semi-létaux à l'état homozygote mais récessifs (comme les mutations a_1^0) peuvent être éliminés très rapidement des populations grâce à une valeur sélective gamétique faible ou nulle.

Ces observations permettent de clarifier les raisons pour lesquelles beaucoup de « mutants » chlorophylliens ou morphologiques obtenus après des traitements mutagènes pratiqués à des doses généralement fortes, manifestent des anomalies de transmission et de ségrégation. Dans cet exemple, le marqueur génétique est inclus dans la délétion; dans beaucoup de cas cependant, une délétion peut être liée à un gène marqueur. La fréquence d'événements mutationnels est telle dans de nombreux traitements que la fréquence de chromosomes affectés de deux et de plus de deux mutations est assez élevée. L'obtention de « mutants » simples est donc subordonnée à l'utilisation de doses faibles et à des études génétiques incluant les croisements réciproques et récurrents avec le génotype d'origine.

Reçu pour publication en février 1979.

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr M. A. DALEBROUX, Fonctionnaire scientifique des Communautés Européennes, grâce auquel les modèles statistiques ont été établis avec le maximum de garantie.

Summary

Pollen competition in γ-induced nuclear mutants of Tobacco

When a deletion " a_1^0 ", overlapping the a_1^+ locus on the *R* chromosome of *Nicotiana tabacum* L. is transmitted by the pollen, there is a deficit of " a_1^0 " segregating plants in the progeny. A gametophytic coefficient of selection (s_γ) has been estimated in the F_2 of the double heterozygote a_1^+/a_1^0 a_2^+/a_2 and in seven genotypes of this F_2.

The values of s_γ varies according to the genotype of the sporophyte e.g. $\widehat{s_\gamma} = 0.58$ in presence of the homeologous a_2/a_2, while $\widehat{s_\gamma} = 0.19$ in presence of a_2^+/a_2^+. Similar variations of s_γ exist in the presence of a_1^+: $\widehat{s_\gamma} = 0{,}19$ or in the presence of a_1: $\widehat{s_\gamma} = 0{,}61$. Thus, normal genotypes on both *S* and *R* chromosomes have favourable effects on the transmission of " a_1^0 ".

Pollen fertility, as estimated by ALEXANDER test, is not significantly different whether the genotypes are carrying a_1^0 or not. Moreover, individual s_γ values can be heterogeneous within these genotypes.

Deviations from mendelian frequencies can be explained by pollen competition (certation) favouring pollen without the a_1^0 deletion, even if that pollen carries the unfavourable a_1 mutation.

The results lead to the following conclusions applied to mutagenesis: 1) isolation of mutations in a background isogenic to the starting material could be more easy if low doses of mutagen were applied. This would give a lower frequency of multiple mutations in the same cell; 2) backcrosses to starting material as female parent would eliminate mutations having deleterious effects on gametophytic viability more rapidly.

Références bibliographiques

ALEXANDER P. P., 1969. Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technol.*, **44** (3), 117-122.

BRUCK D., 1957. Male segregation ratio advantage as a factor in maintaining lethal alleles in wild populations of house mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **43**, 152-158.

DUNN L. C., 1957. Evidence of evolutionary forces leading to the spread of lethal glues in wild populations of house mice. *Proc. Natl. Acad. Sc., U.S.A.*, **43**, 158-163.

EMERSON R. A., 1925. A possible case of selective fertilization in maize hybrids. *Anat. Res.*, **29**, 136.

MANDELSDORF P. C. and JONES D. F., 1926. The expression of Mendelian factors in the gametophyte of Maize. *Genetics*, **11**, 423-455.

PFAHLER, 1975. Factors affecting male transmission in maize (*Zea mays*). In: *Proceeding of the Symposium « Gamete competition in plants and animals »*. Ed. D. L. MULCAHY, North-Holland, Amsterdam, N.

SERRA J. A., 1965. *Modern Genetics*, vol. 1, chap. 3, 89-91, Academic Press.

YANAGISAWA K., DUNN L. C., BENNETT D., 1961. On the mechanism of abnormal transmission ratios at T locus in the house mouse. *Genetics*, **46**, 1635-1644.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 267-276.

The inheritance of flower colours and anthocyanins in Flax (*Linum usitatissimum* L.)

J. A. DUBOIS, J. B. HARBORNE (*), B. X. R. BABLON (**), F. A. PLONKA (***)

Station d'Amélioration des Plantes, 5800 Gembloux, Belgium
(*) *Plant Science Laboratories, The University, Reading, England*
(**) *Centre Technique pour l'Étude et l'Amélioration du Lin, 76740 Fontaine-le-Dun, France*
(***) *Station d'Amélioration des Plantes, Centre national de Recherches agronomiques, I.N.R.A. 78000 Versailles, France*

Summary

After describing the part played by nine genes in modifying flower colour in flax, the results of a chromatographic analysis of various colour phenotypes are shown. Twelve anthocyanins have been isolated, including five new triglycosides. The gene n^f, which has a modifying effect on blue colour, controls glucosylation in the 3 position. The gene a^d, which changes blue flower colour into pale pink, controls the hydroxylation pattern in the B-ring. Cyanidin 3 glucosylru tinoside is normally limited to the veins of the petals but the rare gene L^m, found in Moroccan seed flax populations, increases its concentration allowing this cyanidin glucoside to invade the lamina giving the rare mauve tint in an $a^d L^m$ genotype. With the $a^d n^f L^m$ genotype a deep pink (madder-red) tint is produced. The acyanic type produced by the gene p^b contains kaempferol derivatives. This action, however, affects all plant organs whereas the action of the gene f^{an}, which gives a similar flower phenotype seems to be limited to the flower itself. No methylated anthocyanidins such as malvidin and hirsutidin have been found anywhere in flax tissues during this investigation.

Introduction

Flower colours in cultivated plants are of interest to plant breeders in many ways. They help in the identification of varieties and in the determination of the degree of purity of seeds. They can also play a part in selection since there may be linkage between genes determining flower colour and genes conditioning such characters as yield, quality and resistance to disease. But little work has yet been done on this subject in Flax. Recently, deviations in F_2 proportions of flower colour segregation have been shown to result from a strong linkage

between the white flower producing gene, n^c, and the incompatibility gene (PLONKA, 1971). This enabled us to study pollen competition phenomena and to use it to produce F_1 flax seeds. Biochemical research carried out on the anthocyanins may provide a better understanding of these useful characteristics and of the action of the genes involved.

In this paper, our aim is to show the effect of each flower colour gene on the composition in anthocyanins of flax petals.

Material and methods

A. — *The genes concerned*

Anthocyanins and flavonols have been identified in the petals of various varieties of flax and linseed differing in their flower colour. Nine genes are considered: dl^a, p^b, a^a, l^m, n^f, f^{an}, f^{al}, f^e and n^c. These genes which have been studied by PLONKA, 1971, are named after their recessive mutant; everyone has only two alleles. Other genes have also an effect on flower colour but their action is restricted to anthers, stamen filaments or styles. The lines and varieties were obtained from the collections of the Plant Breeding Stations at Versailles (France) and at Gembloux (Belgium).

1) Blue or pale blue dl^a phenotypes. When all the flower colour genes are dominant, except for l^m, the flower colour is blue. The anthers, pollen, stamen threads, styles are also blue; the stigmas are purple or mauve and the seeds are red brown. The varieties studied are « Arc-en-Ciel », « Azur », « Crista », « Hollandia », « Percello » for fiber flax and « CI 332 », « CI 333-2 », « CI 766 », « Crocus », « Cyprus », « Indian 12 », « CI 1 011 », « Lin du Maroc », « Linott », « Pervenche », « Punjab », « CI 20 », « Roman Winter », « Smyrne » for linseed. Petals are pale blue when the genotype is dl^a dl^a as in « Pale Blue CI 646 » or « Rembrandt ».

2) The gene p^b suppresses all cyanic pigment action in the flowers and throughout the plant. The red layer of the seed in tegument fails to develop giving the seed a greenish yellow colour. The flowers are white, the anthers and pollen grains, yellow. Moreover, the petals are undeveloped and become more or less twisted giving to the flower the shape of a star. The varieties investigated are « CI 687 » (DILLMAN, 54) « Crystal », « Ottawa 770 B », « Stende 10-5 », « Verrières à graines jaunes ».

3) The gene a^a changes the blue colour of the petals into pale pink, but the veins remain blue although the tint is not as intense. Anthers and pollen change from blue to yellow or orange yellow, but stamen filaments and styles remain blue. This suggests anatomical homology between the stamen filaments and the petal veins. The cells of the seed's red layer become thinner and stain less which results in the seed losing its red brown colour and becoming various colours ranging from yellow to greyish brown. The varieties investigated are « Bolley Golden », « Kostroma rose », « Stende 6-10 », (49-7) 15-15.

4) The gene l^m like other colour genes suppresses coloration (here, the mauve coloration only) when recessive. The mauve petal tint produced by the dominant allele L^m is hidden by the blue or purple pigments and appears only in the a^a L^m genotype. The rare L^m gene has been found in the Moroccan varieties « Safi Vilmorin 1 » and « Safi Vilmorin 2 ». All the other varieties investigated up

to now are l^m instead of L^m: blue or purple varieties crossed with a pink a^a gene have not given, as yet, a mauve offspring in the F_1. In our descriptions of genotypes, if this gene is not specified, the variety possesses the recessive allele l^m.

5) The gene n^f produces different colours to the petals according to the genotype which can be A^a, a^a L^m or a^a l^m. When the genotypes is A^a n^f (no matter if, at the same time, it is l^m or L^m) the flowers are violet (purple). The petal veins also become violet as well as the stamen filaments, which demonstrates the homology between these two organs. However, the styles, anthers and pollen remain blue. When the genotype is a^a n^f (a^a n^f l^m) the pale pink of the lamina becomes medium pink. When it is a^a n^f L^m, the pink tint deepens to a red purple colour which is referred to as madder-red. The varieties and lines investigated are « Karnobat 1 600 » (A^a n^f) « Liral Duke » (A^a n^f), lines a^a n^f originating from hybrids with « Liral Duke » : (47-1) 8-10, etc.; lines a^a n^f L^m issued from hybrids with « Safi Vilmorin 1 » and « Safi Vilmorin 2 »: (49-10) 21, etc.

6) The gene f^{an} gives the same type of flower as p^b, i.e. white star-like flower without anthocyanin but the red layer of the seed in tegument develops normally and the seed takes on its red brown colour. This gene is present in the Moroccan « Rabat 2 ».

7) With the gene f^{al} the petals are not as deformed as with f^{an} or p^b and they remain pale blue at the bud stage. The variety supplying this gene is « Chubut 10 ».

8) The gene f^e does not dilute the flower colour as much as the f^{al} gene and does not affect the shape of the petal. At blossom time, the flower is very pale blue and the anthers are grey. After an hour of sunshine, the flower appears white. This gene is present in the variety « Stormont Motley ».

9) The n^c n^c genotypes are of a pure white colour and stamen filaments and styles are also white, but the anthers and the pollen remain blue. In the heterozygotic state N^c n^c, the lamina of the petals colours is blue but the veins, filaments and styles are colourless. The blue colour expresses fully only by hot weather so that the flower appears pale blue by normal temperature. The gene n^c is an interesting marker for plant breeders and geneticists. The stigmas, on the other hand, can take on a mauve blue tint which underlines the homology between anthers and lamina whereas stamen filaments and styles are homologous to the veins. This gene is present in the varieties « Fibra », « Hera », « Linda », « Reina », « Tissandre », « Wiera ». There is a strong linkage between n^c and f^e with about 1 p. 100 of recombinations, and between these two genes and the incompatibility gene (mutated or thwarted by secondary fertility genes) with 2 to 4 p. 100 of recombinations (PLONKA, 1971). There is also a linkage between f^{al} and f^{an} with a recombination rate of about 33 p. 100. A secondary fertility gene is linked to them and is located between them on the chromosome nearer to the f^{al} marker than to the f^{an} marker (PLONKA, 1968).

Colored illustrations of these phenotypes can be found in « *Les variétés de lin et leurs principales maladies* » (PLONKA and ANSELME, 1956).

B. — *Extraction and determination of the flavonoid pigments*

The concentration of anthocyanin diminishes with exposure of the flowers to sunlight. This is probably due to a degradation, for the peak corresponding to anthocyanins in spectrophotometry disappears, with the extraction in Me OH,

by long exposure. Therefore the corollas are collected at the bud stage the day before bloom. They are immediately transfered into a ventilated drying oven, for 12 hours at 40 °C and then kept in brown glass bottles, protected from light.

The flavones and flavonols were extracted by means of aqueous methanol (15 p. 100 H^2O). For the anthocyanins, methanol 0.1 p. 100 HCl is used. The dried petals, reduced to a fine powder by means of a mixer, are then put into a 100 ml Erlenmeyer flask and shaken for 24 hours at room temperature, sheltered from light. The extract is filtered on paper, concentrated under vacuum at 30 °C and stored in a refrigerator.

The identification of the different pigments involves the following steps: extraction, purification, separation and chromatography and spectrophotometric analysis. The extraction consists in obtaining the phenolic compounds of the petals in aqueous or alcoholic solutions. This operation is followed by a purification process which allows only the phenolic compounds to remain in the solution. These phenolic compounds are separated by two dimensional paper chromatography. For flavones and flavonols, MABRY's method is used (MABRY *et al.*, 1970): the two solvent system is TBA (butanol-3, acetic acid, water, 3-1-1) and acetic acid 15 p. 100. The anthocyanins are treated by the method described by HARBORNE (1967) where, besides others, the solvent pair BAW (butanol-1, acetic acid, water, 4-1-5 upper phase) and 1 p. 100 hydrochloric acid is used. More refined separations are sometimes necessary for anthocyanins (electrophoresis) or flavonols (Sephadex LH20).

The separation achieved, the compound appearing on the chromatogram is eluted, collected and purified again in an appropriate solvent. When the purity of the pigment is established with certainty, the identification can take place.

This identification is performed by determining R_f values in one dimensional chromatography in a succession of solvents. Complete hydrolysis in acid and alkaline mediums of the purified product is performed releasing the aglycone and the different sugars. On the other hand, the products of the incomplete acid hydrolysis of the glycoside are chromatographed in several solvents to establish the number and the position of the sugars attached to the basic nucleus. The method is described in details by RIBÉREAU-GAYON (1968).

The purified product is analysed by spectrophotometry in ultra violet and visible light. The maximal absorption values are recorded and also the maximum wavelength shifts associated with the use of the specific reagents.

Results

Flax petals contain, besides anthocyanins, flavones and flavonols. Two series of glycoflavones have been found in leaves, stems and petals : the three mono-G-glycosides, vitexin, isovitexin, iso-orientin and the four di-C-glycosides, lucenin 1 and 2, vicenin 1 and 2. Orientin is limited to leaves and stems. Swertisin is probably also present. Flavonols are represented by kaempferol diglucoside, kaempferol monoglucoside and myricetin glucoside.

Twelve anthocyanins have been identified, all of them glycosylated in position 3, as follows:

1. delphinidin glucosylrutinoside . . . . . Dp GGR
   (with a branched sugar)

2. delphinidin triglucoside . . . . . Dp GGG
3. delphinidin rhamnoglucoside . . . . . DP GR
4. delphinidin diglucoside . . . . . Dp GG
5. delphinidin monoglucoside. . . . . Dp G
6. cyanidin glucosylrutinoside . . . . . Cy GGR
7. cyanidin triglucoside . . . . . Cy GGG
8. cyanidin rutinoside . . . . . Cy GR
9. cyanidin monoglucoside . . . . . Cy G
10. pelargonidin glucosylrutinoside. . . . . Pg GGR
11. pelargonidin rutinoside . . . . . Pg GR
12. pelargonidin monoglucoside . . . . . Pg G

No cyanidin diglucoside nor pelargonidin diglucoside have been encountered. The analysis of seedlings of the variety « Linott » has shown that the purple pigment from the hypocotyl is cyanidin rutinoside Cy GR which is also found in the petals of the deep pink flowers.

Analysis of the blue phenotypes

All the blue colour genes are in the dominant state except for L^m which is replaced by its recessive allele l^m. All these phenotypes possess the following anthocyanins.

1. delphinidin glucosylrutinoside. . . . . Dp GGR
2. delphinidin triglucoside . . . . . Dp GGG
3. delphinidin diglucoside . . . . . Dp GG
4. cyanidin glucosylrutinoside . . . . . Cy GGR

The major anthocyanin is Dp GGR. Cy GGR is situated in the veins of the petals. The lamina of the blue petals contains, as anthocyanins, only delphinidin derivatives. The other pigments of the lamina are a methylated flavone and a myricetin glucoside.

Phenotypes pale blue, action of the gene dl^a

There is a strong decrease in the concentration of Dp GGG, Dp GG and Cy GGR in the pale blue flowers of such varieties as « Rembrandt » or « Pale Blue », but Dp GGR is present in fair concentration.

Phenotypes pale pink a^a

The petals have a relatively high concentration of Pg GGR and Cy GGR. This latter anthocyanin must come from the veins since they remain blue while the petals have a pale pink lamina. Only traces of Pg GR and Cy GR can be seen on the chromatograms. The main function of the gene a^a is therefore to change the delphinidin of the lamina into pelargonidin leaving the Cy GGR of the blue flowers intact in the veins. The gene a^a also allows production of the mono- and diglucoside of kaempferol and a similar unidentified substance. The glycoflavone, vitexin monoglucoside, rather abundant in all other phenotypes, is found only in traces in these pale pink petals.

Action of the gene L^m

This gene gives to the pale pink petals a^a a mauve shade. The same anthocyanins are found in the mauve petals a^aL^m as in the pale pink petals a^al^m namely Cy GGR, Cy GR, Pg GGR, Pg GR; in addition, a little Dp GG from the blue petals can be found. The concentration of the vein pigments, Cy GGR, is increased whereas that of Pg GGR is much reduced. The kaempferol glycosides are absent.

The purple phenotype A^an^f

Only Dp GR and Dp G have been found in these purple or violet corollas. The Cy GGR of the blue flowers supposed to be located in the blue veins disappears, which is in agreement with the change of phenotype since the veins, the lamina as well as the stamen filaments have the same violet tint.

The pink phenotype a^a n^f

Chromatographic analysis shows the presence of Cy GR, Cy G, Pg GR and Pg G. The glycoflavones are abundant but no kaempferol derivatives are present. Reduction in glucosylation due to gene n^f (i.e. Pg CGR → Pg GR) also intensifies the pinkness of flower colour. Cy GGR is absent and there is no blue colour in the veins.

The dark pink, or madder-red phenotype $a^an^fL^m$

Madder-red petals contain Cy GR and Pg GR with traces of Cy GGG. This latter anthocyanin is to be found only in $a^an^fL^m$ genotypes. In the presence of L^m, n has no effect on the glycosylation pattern of cyanidin. As in the pink genotype a^an^f, the glycoflavones are abundant. The cyanidin rutinoside Cy GR is the sole pigment which gives the brown-purple colour to the hypocotyl of flax seedlings.

The acyanic phenotype p^b

No trace of anthocyanin was found but the kaempferol mono and diglucosides were present. As there is no brown purple colour in the leaves nor in the hypocotyl of seedlings (typical colour of anthocyanins) it can be presumed that synthesis of anthocyanin is suppressed in all parts of the plant.

The phenotype f^{an}

The flower resembles that of p^b but the seeds remain red-brown indicating that the synthesis of anthocyanin is not suppressed everywhere. There is no anthocyanin in the petals nor kaempferol although the latter is present in genotypes p^bF^{an}.

TABLEAU I

Distribution of pigments in different flax genotypes

	Dp GGR	Dp GGG	Dp GR	Dp GG	Dp G	Cy GGR	Cy GGG	Cy GR	Cy G	Pg GGR	Pg GR	Pg G	Flavonol
Dl^a, *P*^{b}, *A*^{d}, *l*^{m}, *N*^{f}, *F*^{an} . . .													
F^{dl}, *Fe*^{c}, *N*^{c}, blue	++	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
dl^a, pale blue	+	*t*	—	*t*	—	*t*	—	—	—	—	—	—	—
p^b, acyanic type	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++
a^d, pale pink	—	—	—	—	—	+	—	*t*	—	+	*t*	—	++
a^d *L*^{m}, mauve	—	—	—	*t*	—	++	—	*t*	—	*t*	*t*	—	—
n^f, violet	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
a^d *n*^{f}, pink	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+	—
a^d *n*^{f} L^m, dark pink.	—	—	—	—	—	—	*t*	+	—	—	+	—	—
f^{an}, white crimped	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
f^{dl}, very pale blue crimped . .	+	—	—	*t*	—	*t*	—	—	—	—	—	—	—
f^c, very pale blue	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
n^c, white with blue anthers . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+

— : no pigments; *t* : traces; + : present; ++ : abundant.

The phenotype f^{al}

At the bud stage, the corolla is very pale blue and the petals are a little deformed, not quite as much, however, as with f^{an} and p^{b}. They contain Dp GGR, Dp GG and Cy GGR, but no Dp GGG as in the normal blue petals.

Influence of heterozygosity on the anthocyanin composition of the petals

Except for n^{c}, dominance of coloration genes is complete from the phenotypic point of view. Chromatographic analysis shows that this dominance is complete also in terms of the anthocyanins formed although there are occasional exceptions. For example, analysis, carried on F_2 offsprings show, in some cases, traces of the Pg GGR (characteristic of $a^{a}a^{a}$ genotypes) with heterozygote blue phenotypes $A^{a}a^{a}$ but traces of the same anthocyanin have also been found in the homozygotes $A^{a}A^{a}$.

The genotypes $A^{a}L^{m}$

These genotypes are not naturally found and have been obtained by crossing blue varieties $A^{a}l^{m}$ with mauve varieties $a^{a}L^{m}$ (whose anthers and pollen are yellow). Phenotypically, it seems that the L^{m} pigments (Cy GR and Pg GGR) are screened by the blue pigments produced by A^{a}. This point of view is confirmed by chromatographic analysis. As a matter of fact, the F_1 blue flowers $A^{a}a^{a}L^{m}l^{m}$ possess the six anthocyanins Dp GGR, Dp GGG, Dp GG, Cy GGR, Cy GR and Pg GGR, instead of only the first four.

To sum up, table 1 gives the flavonoid composition of the genotypes analysed.

Discussion

A. — *The anthocyanin genes*

According to the above results, it is clear that the mutant n^{f} does not permit complete glycosylation of the anthocyanins: instead of di or triglucosides, the petals contain only monoglucosides. A genotype N^{f}, with blue flowers, which possesses in the petals the four anthocyanins Dp GGR, Dp GGG, Dp GG and Cy GGR contains, when N^{f} is replaced by n^{f}, so giving a purple flower, only the Dp GR and Dp G. The Dp GGR had been transformed into Dp GR and the Dp GGG and Dp GG into Dp G. The decrease in glycosylation of delphinidin alters the tint of the petals from blue to purple (violet). The cyanidin glucosylrutinoside, Cy GGR is present in lesser amount which is understandable, since the veins take the same purple tint as the lamina of the petal.

This reduction in glycosylation also affects the pink $a^{a}n^{f}$ genotypes where only rhamnoglucosides and monoglucosides are found. In the dark pink $a^{a}n^{f}L^{m}$ genotype, there are exceptionally traces of Cy GGG.

The mutant a^{a} lacks the enzymes for hydroxylating anthocyanin in positions 3′ and 5′ so that only pelargonidin glycosides are formed. Delphinidin

GGR, the most abundant anthocyanin in the blue petals, is replaced by pelargonidin GGR in the pale pink a^a flowers. This action seems limited to the lamina since Cy GGR is still present, the veins retaining their blue tint although the colour is not as intense. Therefore, the presence of both delphinidin and cyanidin is due to the fact that a^a acts only on the pigments of the lamina and does not affect those of the veins.

The gene L^m does not control synthesis of any new pigments, although the mauve colour of the phenotype is distinctive, but it increases the concentration of the Cy GGR normally limited to the veins. It is possible that the excess of cyanidin synthesis causes this pigment to invade the lamina thus affecting its colour in the genotype a^aL^m. When n^f is present, giving a $a^an^fL^m$ genotype with a deep pink or madder red tint, the anthocyanins are mainly Cy GR and Pg GR. By comparison, a pink a^an^f genotype contains the two same anthocyanins with in addition Cy G and Pg G. The change to a deeper pink must be attributed to a greater concentration of the pigments and the spreading of the Cy GR from the veins to the lamina.

B. — *Suppression or dilution genes*

The gene p^b which gives to the plant an acyanic phenotype suppresses at the same time the brown red layer of the seed in tegument, distorts petals and reduces the fertility of the capsules. It is often in deficit in the F_2 segregation because of the decrease in fecundity of the ovules p^b (PLONKA, 1971). This acyanic type of mutation with production of flavonols is very common in other plants and has been studied in *Petunia hybrida, Aquilegia vulgaris, Campanula medium* (BRAUN, 1976). The flowers f^{an} are quite like those of p^b, but the seeds remain red brown and chromatographic analysis does not disclose any flavonol. This suggests that the suppression of anthocyanin synthesis due to f^{an} is topographically limited to the flower and that anthocyanins are formed normally in other parts of the plant. The mutants f^{al} and f^e strongly dilute the delphinidin formed in the flowers, somewhat distorting the petals. Anthocyanins are also produced in other parts of the plant.

The concentration of flavonols in the petals is not always linked to the absence of anthocyanins. Thus, pale pink flowers which contain Cy GGR, Cy GR, Pg GGR and Pg GR are rich in flavonols. White petals n^c (with blue anthers) however do not contain any larger amount of kaempferol glucosides.

Finally it must be stressed that in cultivated flax, methylated anthocyanins are not produced in any part of the plant. We were not able to confirm the results of IBRAHIM *et al.* (IBRAHIM *et al*, 1971; THAKUR *et al.*, 1974) who assert that glycosides of malvidin and hirsutidin are formed in the hypocotyl of flax seedlings.

Reçu pour publication en février 1979.

Acknowledgments

The authors wish to acknowledge the assistance given by Mr. PAGE, translator at the Canadian Department Agriculture, in the revision of the English version of this paper.

Résumé

Couleur des fleurs et anthocyanes chez le Lin

L'action sur la composition en anthocyanes de neuf gènes de coloration de la fleur du Lin cultivé a été étudiée. La transformation de la couleur bleue des pétales et des filets d'étamine en violet, due au mutant n^f, provient sans doute de son inaptitude à assurer une glycosylation normale des anthocyanes. En effet, la Dp GGR (la delphinidine glucosylrutinoside) des pétales bleus est remplacée par la Dp GR (delphinidine rhamnoglucoside) et la Dp GGG (delphinidine triglucoside) ainsi que la Dp GG sont remplacées par la Dp G dans ce mutant violet. Le gène n^f a son centre d'action dans les nervures du pétale et leur homologue, le filet d'étamine. En changeant la couleur bleue de ces organes en violet, n^f supprime du même coup la Cy GGR normalement limitée aux nervures et aux filets d'étamine des fleurs bleues.

Le mutant a^d qui transforme les fleurs bleues en fleurs rose pâle semble ne plus être capable d'hydroxyler les positions 3' et 5' du noyau latéral de benzène, donnant de la pélargonidine au lieu de la delphinidine. Une fleur bleue A^d contient Dp GGR, Dp GGG, Dp GG et Cy GGR et, par comparaison, une fleur rose pâle a^d, Pg GGR, Cy GGR avec des traces de Pg GR et Cy GR. Comme les nervures des pétales rose pâle restent bleues, quoique moins foncées, il est normal de retrouver la Cy GGR localisée aux nervures. Le centre d'action d'a^d est donc le limbe et son organe homologue, l'anthère, laissant aux nervures et aux filets d'étamine leur couleur bleue.

Les fleurs $a^d n^f$ sont d'un rose franc avec les nervures et les filets d'étamine violacés. Il y a à la fois déshydroxylation et déglycosylation des anthocyanes qui deviennent Cy GR, Cy G, Pg GR et Pg G.

Le gène rare d'origine marocaine L^m, dont l'action est cachée par les pigments bleus dans les génotypes A^d, donne aux pétales une couleur mauve lorsque la fleur est $a^d L^m$. Cette couleur devient rose foncé par l'adjonction de n^f (génotype $a^d n^f L^m$). Le gène L^m n'apporte pas d'anthocyanes nouvelles; ce sont les mêmes que celles des fleurs rose pâle a^d, mais la concentration de la Cy GGR, spécifique aux nervures, est augmentée. On peut admettre qu'elle déborde alors des nervures et colore le limbe en mauve. Par rapport aux fleurs roses $a^d n^f$, les fleurs rose foncé $a^d n^f L^m$ manquent de Cy G et Pg G mais la concentration en Cy GR et Pg GR est augmentée.

Les gènes de dilution, dl^a, f^{al}, f^e suppriment ou ne laissent subsister qu'à l'état de trace les Dp GGG, Dp GG et Cy GGR, seule la Dp GGR subsiste, mais à moins forte concentration.

Les pétales blancs n^c ne contiennent plus d'anthocyanes mais il y apparaît des flavonols. Ceux-ci s'expriment aussi dans le mutant acyanique p^b qui supprime la pigmentation anthocyanique dans toute la plante.

References

BRAUN A., 1976. L'hérédité des anthocyanes florales. *Année biol.*, **7-8**, 293-328.

HARBORNE J. B., 1967. *Comparative biochemistry of the flavonoids*. Academic Press, London and New York, 383 p.

IBRAHIM R. K., THAKUR M. L., PERMANAND B., 1971. Formation of anthocyanins in callus tissue cultures. *Lloydia*, **34**, 175-182.

MABRY T., MARKHAM K. R., THOMAS M. B., 1970. *The systematic identification of flavonoids*, Springer Verlag, VIII, 354 p.

PACHECO H., 1969. Biogenèse des pigments flavoniques. *Bull. Soc. Franç. Physiol. Végét.*, **15** (1), 3-28.

PLONKA F., ANSELME C., 1956. *Les variétés de lin et leurs principales maladies cryptogamiques*. I.N.R.A., Paris, 179 p.

PLONKA F., 1968. Les disjonctions anormales chez le lin cultivé, exemples de sélection gamétophytique. *Ann. Génét.*, **11** (1), 45-52.

PLONKA F., 1971. La compétition pollinique chez le lin cultivé. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (2), 179-220.

RIBEREAU-GAYON P., 1968. *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod, Paris, 254 p.

THAKUR M. L., IBRAHIM R. K., 1974. Biogenesis of flavonoids in flax seedlings. *Z. Pflanzenphysiol.*, **71**, 391-397.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 277-287.

Note sur les cultures de tissus de fèverole (*Vicia faba* L.) Bouturage, culture de cals, culture de méristèmes

C. MARTIN, Monique CARRÉ et G. DUC (*)

Station de Physiopathologie végétale,
(*) Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., Centre de Recherches de Dijon, B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

Résumé

La suppression de l'azote sous forme ammoniacale des macro-éléments a amélioré la croissance *in vitro* des boutures et a permis une bonne croissance des méristèmes et cals de Féverole.

La présence de charbon actif (20 g /l) dans le milieu de bouturage et de repiquage des méristèmes différenciés a conduit à une meilleure croissance et supprimé les problèmes d'oxydation des tissus repiqués. Une bonne élongation des entrenœuds a été obtenue en présence de AG (5.10^{-7}).

AG (10^{-7}) + BA (10^{-6}) dans le milieu a permis une différenciation des méristèmes.

K (5.10^{-7}) + ANA (10^{-6}) dans le milieu a permis une bonne croissance des cals.

Des difficultés se présentent au niveau de la désinfection des tissus et de l'enracinement des boutures de 2e et 3e cycles de bouturage.

Abréviations :

Charbon actif	C
Kinétine (6-Furfurylaminopurine)	K
Gibberelline (80 % A_3 - 20 % A)	AG
6-Benzyl aminopurine (6-Benzyladenine)	BA
Acide α-naphtalène acétique	ANA
Acide indole-3 acétique	AIA
Acide indole-3 butyrique	AIB

Les concentrations sont exprimées en g /ml.

Introduction

L'objet de ce travail est la mise au point des techniques de culture *in vitro* chez la Féverole en vue de fournir aux sélectionneurs un nouvel outil face au problème du manque de stabilité de la stérilité mâle nucléo-cytoplasmique (Picard, 1972; Berthelem et Leguen, 1974; Thiellement, 1977; Duc, 1978).

Deux sources de stérilité mâle nucléo-cytoplasmique sont actuellement disponibles chez la Féverole :

— Le cytoplasme 447 découvert par BOND au P.B.I. de Cambridge.

— Le cytoplasme 350 découvert par BERTHELEM à l'I.N.R.A. de Rennes.

Ces deux sources manifestent des phénomènes d'instabilité du phénotype pollinique qui conduisent dans les descendances de croisement d'une plante mâle stérile par un mainteneur à des variations inter- et intra-plante du degré de stérilité mâle. Les variations intra-plante présentent dans certains cas une modalité discontinue conduisant à la juxtaposition de secteurs parfaitement stériles et parfaitement fertiles, et dans d'autres cas à une modalité de variations continues au cours de la floraison.

Ces variations phénotypiques intra-plante sont liées à des modifications de l'information génocytoplasmique transmise par les ovules à la descendance (DUC, 1978). Dès lors, il apparait intéressant de pratiquer une sélection intra-plante de combinaisons génome-cytoplasme conduisant à une plus grande stabilité phénotypique et dans ce but la culture *in vitro* permettra d'éclater la variabilité au sein d'une plante. On pourra rechercher ultérieurement les cribles permettant de sélectionner *in vitro* les situations géno-cytoplasmiques ainsi isolées.

Matériel et méthodes

Le matériel végétal utilisé est la lignée Ad 23 de Féverole de printemps sélectionnée par BERTHELEM à la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes. Cette lignée est en 9e génération d'autofécondation.

Les mises en culture *in vitro* ont été réalisées à partir de plantes âgées de trois semaines et cultivées en serre, pour certains essais de bouturage et pour tous les prélèvements de méristèmes; à partir de plantules issues de graines germant dans des conditions stériles pour les cultures de cals et la majorité des bouturages.

Des sommets de tiges ne comportant qu'un entrenœud allongé, que nous désignerons sous le terme d'apex ainsi que des fragments de tiges comportant un nœud foliaire, ont été utilisés pour la réalisation des boutures.

Toutes les cultures *in vitro* sont réalisées en tubes de verre bouchés par capo-test, à température de 24 °C de jour et 20 °C de nuit et dans des conditions d'éclairement de 6 000 lux pour une photopériode de 16 heures.

Résultats et discussion

1. — *Germination de graines* in vitro

Les graines sont désinfectées par un trempage d'une minute dans l'alcool suivi d'un trempage de 30 minutes dans l'hypochlorite de calcium à 7 p. 100 et de 4 rinçages à l'eau distillée stérile. Elles sont ensuite mises en culture sur le milieu BN 1 650 (voir annexe). Le taux de germination obtenu dans ces conditions est de 85 p. 100. Quinze jours après la mise en culture, les plantules sont enracinées et les trois premiers entrenœuds sont allongés. Elles sont alors rabattues à l'occasion

des prélèvements ce qui a pour conséquence une levée de dominance apicale et une émission de nouvelles talles. Le nombre total des talles émises par une plante cultivée dans ces conditions est en moyenne de 8.

2. — *Bouturage*

Nécessité d'éviter la désinfection des tissus mis en culture (tabl. 1).

Nous avons pu constater, en comparant l'enracinement d'apex désinfectés par un trempage dans l'alcool (1′), puis l'hypochlorite de calcium à 7 p. 100 (15′) suivi de rinçages à l'eau distillée et celui d'apex non désinfectés provenant de cul-

TABLEAU I

Effet de la désinfection des apex sur leur enracinement
Milieu BN + C + BA 10^{-6} + AIB 10^{-6}

	Fragments mis en culture	Fragments infectés	Fragments enracinés
Apex désinfectés.	30	5	1
Apex issus de milieu stérile.	30	0	25

tures en milieu stérile, que la désinfection conduit à une oxydation assez importante des tissus qui nuit à l'enracinement dans le milieu BN 1 650 + C + BA.10^{-6} + AIB.10^{-6}.

Nous n'avons utilisé que des tissus prélevés en milieu stérile pour les bouturages et les cultures de cals dont les résultats suivent.

Les précédents travaux réalisés sur les cultures *in vitro* de tissus et d'organes de *Vicia faba* (AUBRY *et al.*, 1975; GUEUZIEC, 1974; THIELLEMENT, 1975) ont conduit à des taux de réussite peu élevés, le problème majeur posé par la Féverole au niveau des cultures de tissus étant l'oxydation des phénols contenus dans la plante.

Ce travail est une tentative de levée des facteurs limitant la culture de tissus de Féverole en étudiant l'effet dans le milieu de deux substances de croissance :

— le charbon actif (C. MARTIN) qui dans de nombreux cas d'espèces a permis une augmentation des taux de réussite du bouturage et de la culture de méristèmes;

— l'azote sous forme ammoniacale qui est réputé jouer un rôle au niveau de la croissance et de la différenciation comme par exemple dans le cas d'*Anthurium andraeanum* (PIERIK, 1976) où les faibles teneurs favorisent la formation de bourgeons et de racines.

Mise au point d'un milieu pour le bouturage

— *Essais de premier bouturage* (tabl. 2).

L'enracinement dans un milieu contenant du charbon actif (20 g /l) est amélioré, sans doute à la suite de la moindre oxydation des phénols contenus dans la plante au contact du milieu.

Il ne semble pas que ANA, BA ou AIB soient très nécessaires à l'émission des racines.

Dans le cas du milieu de base additionné de charbon, on a pu noter un effet favorable de la diminution de la teneur en azote ammoniacal sur le nombre d'ex-

TABLEAU 2

Comportement d'apex et de nœuds repiqués sur différents milieux de bouturage

Milieu	Fragments mis en culture	Fragments nécrosés	Fragments allongés	Fragments enracinés
BN 1650.	24	18	4	2
BN 1650 + C.	24	0	11	16
BN 1650 + C + BA 10^{-6} + ANA 10^{-6}	24	0	12	15
BN 1650 + C + BA 10^{-6} + AIB 10^{-6}	24	0	13	17
BN 1650 + C + AG 5.10^{-7}	24	0	17	18
BN 100 + C	24	0	14	20
BN 100 + C + AG 5.10^{-7}	24	0	16	21
BN 0 + C + AG 5.10^{-7}	24	0	17	21

plants enracinés. La suppression de l'azote ammoniacal a également permis un bon enracinement.

La présence de gibberellines à la concentration de 5.10^{-7} est très favorable à l'élongation des tiges.

Parmi les milieux testés, nous avons retenu le milieu BNO + C + AG 5.10^{-7} comme favorable aux bouturages en conduisant à un taux de réussite au premier bouturage voisin de 80 p. 100. Un nombre moyen de 12 boutures a ainsi été obtenu à partir d'une plante souche.

— *Essais de second cycle de bouturage*

Le taux de plantes enracinées au 2e cycle de bouturage sur le milieu BN O + C + AG 5.10^{-7} n'a été que de 40 p. 100. Cette diminution de l'enracinement avec les cycles de bouturage a déjà été signalée par d'autres auteurs (GUEUZIEC, 1974).

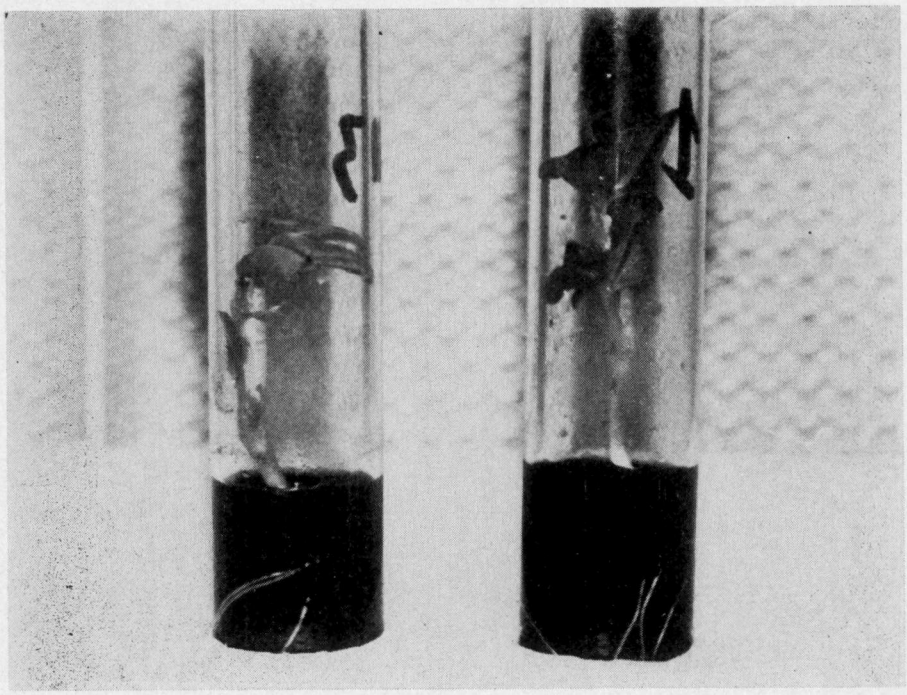


FIG. 1. — *Boutures enracinées après trois semaines de culture sur le milieu BNO + C + AG* 5.10^{-7}.

— *Transfert des plantes en terre*

Les racines sont débarrassées soigneusement de la gélose par rinçage et les plantes sont repiquées sur mélange tourbe-gravier et arrosées journellement de solution nutritive. Pendant les huit premiers jours, un film plastique maintient une atmosphère à degré hygrométrique élevé nécessaire à une bonne reprise mais ces conditions augmentent les risques d'attaque par le *Botrytis*. Les pertes de plantules racinées à ce niveau sont assez fréquentes.

3. — *Culture de cals*

Les cals sont obtenus à partir de fragments d'entrenœuds de 1 cm de long, prélevés sur des plantes élevées en conditions stériles, mis dans le milieu en polarité inverse de celle qu'ils avaient dans la plante ce qui favorise la formation des cals (GUEUZIEC, 1974). La lecture des résultats est réalisée 6 semaines après la mise en culture.

La concentration et l'équilibre des substances de croissance tant pour la croissance que pour la néoformation de racines ont un effet prépondérant.

Les substances de croissance K et ANA aux concentrations respectives de 5.10^{-7} et 10^{-6} permettent le meilleur développement des cals sans formation de racines.

L'addition de charbon actif (20 g/l) est néfaste à la croissance des cals.

TABLEAU 3

Croissance des cals sur différents milieux de culture

Milieu	Poids moyen d'un cal (g)	Poids des cals						Total des cals	Cals émettant des racines
		0-0,25 g	0,25-0,5 g	0,5-0,8 g	0,8-1,2 g	1,2-2 g	2-3 g		
BN 1 650 + C + K 2.10^{-7} + ANA 2.10^{-6} . .	0,36	11	9	4				24	4
BN 1 650 + K 2.10^{-7} + ANA 2.10^{-6} . . .	0,68	3	7	5	7	2		24	17
BN 1 650 + K 2.10^{-7} + AIA 2.10^{-6}	0,92		7	6	5	6		24	14
BN 1 650 + K 5.10^{-6} + adenine 40 mg/l + AIA 10^{-6}	0,62		12	6	6			24	4
BN 1 650 + K 5.10^{-7} + ANA 10^{-6}	1,67				9	8	7	24	0
BN 100 + K 5.10^{-7} + ANA 10^{-6}	1,67				9	8	7	24	0
BN 0 + K 5.10^{-7} + ANA 10^{-6}	1,7				9	7	8	24	0

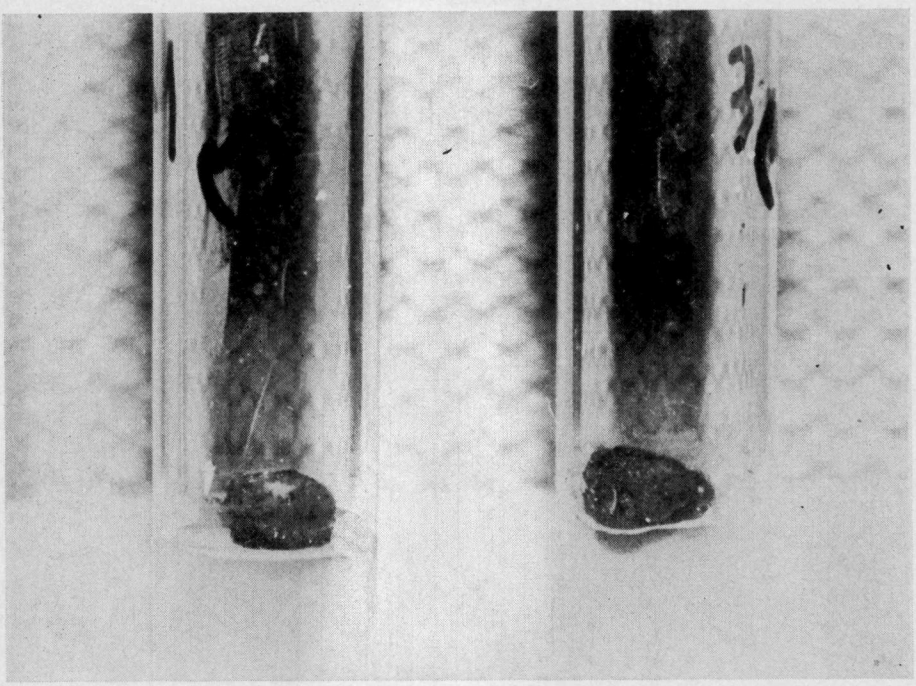


FIG. 2. — *Cals formés après six semaines de culture sur le milieu BNO + K.5.10^{-7} + ANA.10^{-6}.*

Les variations de teneur en azote ammoniacal n'ont pas conduit à des différences de croissance des cals.

Les cals peuvent être éclatés et repiqués pendant plusieurs cycles.

Nous avons essayé les milieux suivants afin de provoquer l'organogénèse à partir des cals.

Les milieux BN O + [ANA 5.10^{-6} K 10^{-5} ; ANA 10^{-6} K 10^{-5} ; ANA 10^{-6} K 5.10^{-5} ; ANA 10^{-7} K 10^{-5} ; ANA 10^{-7} K 5.10^{-5}

Jusqu'alors ces milieux n'ont pas permis d'obtenir la régénération de plantes et nous poursuivons nos essais.

4. — *Culture de méristèmes*

Ils sont prélevés à l'aisselle des feuilles de plantes âgées de trois semaines, et repiqués sur le milieu BN O + BA 10^{-6} + AG 10^{-7} qui a permis la régénération de plantes à partir de méristèmes dans de nombreux cas d'espèces (C. MARTIN).

La croissance est très lente. Après un séjour d'un mois sur ce milieu qui permet la croissance, 4 à 5 repiquages mensuels doivent être pratiqués sur BN O + C + AG 5.10^{-7} pour obtenir de jeunes plantes enracinées qui présentent à leur

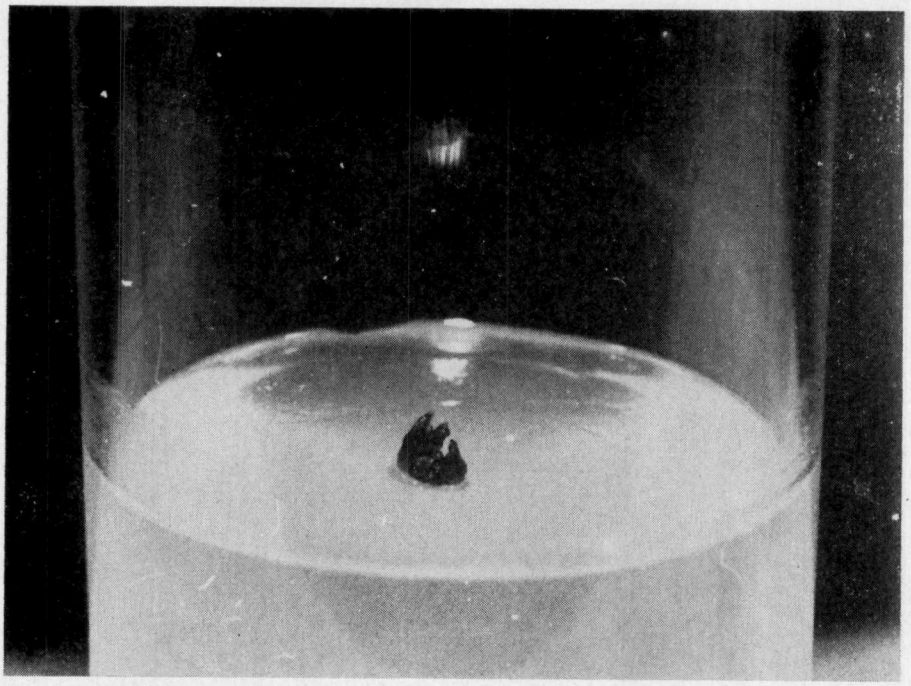


FIG. 3. — *Méristème après 1 mois de séjour sur le milieu BNO + BA.10^{-6} + AG.10^{-7}.*

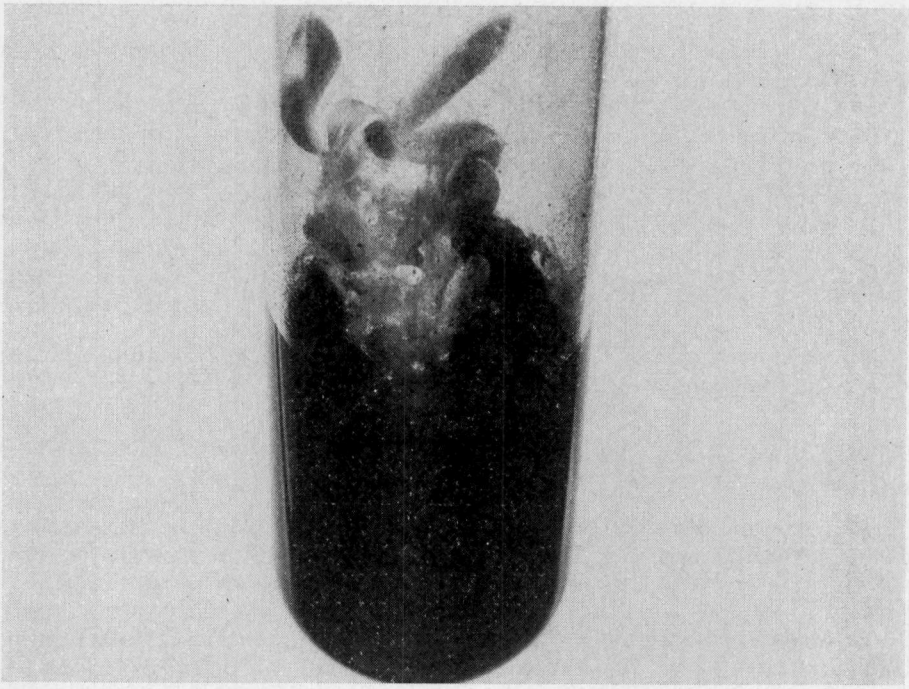


FIG. 4. — *Plantule issue de 6 mois de culture de méristème sur le milieu BNO + C + AG.5.10^{-7}.*

base de nombreux bourgeons adventifs offrant de nouvelles possibilités de multiplication.

La reprise en terre des plantes régénérées pose les mêmes problèmes que celle des boutures.

5. — *Conclusion*

Les résultats obtenus au cours de ce travail vont être appliqués à l'étude fondamentale de l'instabilité de la stérilité mâle cytoplasmique. Dans la mesure où un passage par la voie sexuée est source de dérive vers la fertilité et a un faible coefficient multiplicateur (de l'ordre de 15 à 20), les techniques de multiplication végétative *in vitro* ainsi mises au point sont dès à présent un outil intéressant dans la sélection d'une stérilité mâle plus stable chez la Féverole.

Reçu pour publication en avril 1979.

Summary

Studies on field bean tissue cultures (Vicia faba L.)
Rooting of stem cuttings, callus culture, meristem culture

Exclusion of ammonium ions from the nutrient medium improved the *in vitro* growth of roots from stem cuttings, and allowed a good growth of meristem and callus cultures of field beans.

Improved growth was also obtained on media containing active carbon (20 g/l) due to a reduction in the level of phenol oxidation within the tissues.

GA (5.10^{-7}) increased internode elongation.

GA (10^{-7}) + BA (10^{-6}) induced good differenciation of meristems whilst K (5.10^{-7}) + ANA (10^{-6}) induced good callus growth.

Some problems still exist, however with regard to the desinfection of tissues and the vegetative propagation of second and third cycle.

Références bibliographiques

AUBRY A. M. *et al.*, 1975. Propagation végétative de la Féverole à partir de fragments de tiges. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (2), 225-229.

BERTHELEM P., LEGUEN J., 1974. *Rapport d'activité 1971-1974. Station d'Amélioration des Plantes*, I.N.R.A. Rennes.

BOND D. A., 1966. Male sterility in field beans (*Vicia faba* L.) III with a cytoplasmic type of inheritance. *J. agric. Sci. Camb.*, **66**, 359-367.

DUC G., 1978. *Modalités d'expression et hypothèses explicatives de la stérilité mâle cytoplasmique chez la Féverole.* Thèse de Docteur Ingénieur de l'Université de Paris-Sud. Centre d'Orsay.

GUEUZIEC M. N., 1974. Culture *in vitro* de tissus et d'organes de *Vicia faba minor*. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, D.E.A.

MARTIN C., 1977. La culture de méristèmes. In : *La culture des tissus et des cellules de végétaux.* R. J. GAUTHERET (Ed.), Masson, Paris, 221-231.

MARTIN C., 1977. La culture de méristèmes et la multiplication végétative *in vitro*. *Jardins de France*, n° 5, 11-14.

MOREL G., MARTIN C., 1955. Guérison de plantes atteintes de maladies à virus par cultures de méristèmes apicaux. *14e Intern. Hort. Cong.* The Hague-Schevingen, Netherlands, vol. **1**, 303-310.

MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, *15*, 473-497.

PICARD J., 1972. *Rapport d'activité* 1968-1972. *Station d'Amélioration des Plantes*, I.N.R.A. Dijon

PIERIK, 1976. *Anthurium andraeanum* plantlets produced from callus tissues cultivated *in vitro*. *Physiol. Plant*, **37**, 80-82.

THIELLEMENT H., 1975. *Bouturage* in vitro *de la Féverole*. D.E.A. d'Amélioration des Plantes. Faculté d'Orsay, 36 p.

THIELLEMENT H., 1977. *De la stérilité mâle cytoplasmique chez* Vicia faba *L.* Thèse de 3e cycle. Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 59 p.

Annexe

A. — *Milieu de base — Concentrations finales dans le milieu en mg /l*

1. — *MACRO-ÉLÉMENTS*

Trois combinaisons ont été essayées en faisant varier la proportion d'azote sous forme nitrique par rapport à l'azote sous forme ammoniacale. La première (milieu de base B.N. 1 650) correspond aux macro-éléments de MURASHIGE et SKOOG (1962).

	BN 1650	BN 100	BN 0
NH_4NO_3	1650	100	0
KNO_3	1900	2850	2950

CL_2Ca	440
$MgSO_4$, $7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
Na_2EDTA.	37,3
$FeSO_4$, $7H_2O$	27,8

2. — *MICRO-ÉLÉMENTS DE MURASHIGE et SKOOG (1962)*

H_3BO_3	6,2
$MnSO_4$, $4H_2O$	22,3
$ZnSO_4$, $4H_2O$	8,6
KI	0,83
Na_2MoO_4, $2H_2O$	0,25
$CuSO_4$, $5H_2O$	0,025
$CoCl_2$, $6H_2O$	0,025

3. — *VITAMINES B (MOREL et MARTIN 1955)*

Chlorhydrate de pyridosine	1
Panthotenate de calcium	1
Chlorhydrate de cystéine	1
Biotine	0,01
Thiamine	1
Acide nicotinique	1

4. — L. GLUTAMINE	200
5. — MESO-INOSITOL	100
6. — SACCHAROSE	30 000
7. — AGAR	7 500

B. — *Additifs — Abréviations*

1. — *CHARBON ACTIF*

Merck Art 2186, 20 g/l de milieu . . . C

2. — *SUBSTANCES DE CROISSANCE*

Kinétines (6-Furfurylaminopurine)	K
Gibberellines (80 % A_3-20 % A)	AG
6-Benzyl aminopurine (6-Benzyladenine)	BA
Acide α-naphtalène acétique	ANA
Acide indole-3 acétique	AIA
Acide indole-3 butyrique	AIB

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 289-304.

Sélection du Maïs pour la résistance à la Pourriture de tiges Etude de génotypes précoces

Y. BARRIÈRE

Laboratoire de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., Mons-en-Chaussée, 80200 Péronne

Résumé

Les études réalisées sur la pourriture des tiges de maïs précoces (indice F.A.O. inférieur à 280) ont permis de définir une échelle d'intensité de la maladie dans la base des tiges fendues longitudinalement. Les notations, faites sur des plantes hybrides, montrent que les variances d'AGC et d'ASC sont significatives. La sélection sur les aptitudes générales est possible, et le tri pourrait donc être réalisé en notant les familles dès la génération F_3 en croisement par des testeurs précoces et hétérotiques respectivement sensibles et résistants.

Les notations montrent que si sensibilité et précocité apparaissent liées, il est toutefois possible de choisir des génotypes plus résistants au sein de sous-groupes de précocité donnée. Des lignées très précoces et résistantes, en AGC, ont été mises en évidence.

Une approche des relations précocité de maturation, sensibilité et conditions de milieu est présentée, qui montre que les basses températures observées en fin de culture dans les régions nord pourraient être un facteur de sensibilisation des plantes, probablement par accélération de la sénescence.

I. — Introduction

Parmi les maladies du Maïs, la « verse parasitaire » ou « fusariose des tiges » est sans doute la plus importante en France, tant par sa répartition sur l'ensemble des cultures et la régularité de ses attaques, que par les pertes qu'elle est susceptible d'entraîner.

C'est une maladie de pourritures de tiges (et de racines) qui s'observe en fin de culture. Les plantes attaquées flétrissent prématurément, et le grain peut échauder. Les tissus de la moelle des tiges, probablement envahis à partir des racines, sont désorganisés, et seuls subsistent les faisceaux vasculaires et l'écorce. La faible résistance mécanique qui en résulte, peut alors conduire au symptôme de verse parasitaire. Cette affection est essentiellement une maladie de la maturation et les plantes immatures, ou celles qui possèdent un épi mal garni, charbonné, qui végètent sans mûrir, présentent un phénotype résistant.

Les pertes de rendement, dues à l'échaudage et à la mauvaise récolte des plantes versées, sont difficiles à apprécier précisément. Selon les auteurs, elles sont estimées de 7 à 15 p. 100 de la récolte, et avec CASSINI (1973), on peut considérer qu'elles représentent en moyenne une baisse de rendement de l'ordre de 10 p. 100.

Cette maladie est en particulier la seule qui soit dommageable aux maïs précoces. Les variétés actuelles ont en effet un bon niveau de résistance au charbon (*Ustilago maydis*) (DC.) CORDA, et les nécroses à *Helminthosporium carbonum* ULLSTRUP ou à *Kabatiella zeae* NARITA et HIRATSUKA, que l'on observe parfois n'ont pas d'incidence économique. De plus certains hybrides, considérés comme tolérants à la verse parasitaire dans le Nord de la France il y a quelques années, y apparaissent désormais comme sensibles. Ceci n'est sans doute pas dû au développement de souches plus agressives ou plus virulentes sur le matériel considéré, mais est plutôt une conséquence de l'extension des surfaces occupées par le Maïs, des rotations céréalières plus intensives, des techniques de culture, et en particulier de l'enfouissement des pailles (CASSINI, 1973).

Les études réalisées sur cette affection sont nombreuses. MESSIAEN et LAFON (1956), CAPPELLINI (1959), CALVERT et ZUBER (1966), MOLOT (1969), MENSAH et ZWATZ (1975), entre-autres, se sont intéressés à la réalisation de contaminations artificielles des tiges avec des *Fusarium roseum* (LINK) Sn. et H. dans l'espoir d'obtenir une infection homogène et précoce (méthodes du « grain d'orge », du « cure-dent », du « trait de bêche », du « morceau de mousse »). Nous avons nous-même réalisé des essais en 1976 dans le Nord et le Sud-Ouest de la France selon la méthode du « morceau de mousse ». Les résultats sont systématiquement décevants, sauf peut-être lorsque les parcelles d'essais sont des terrains neufs pour les céréales, et l'inoculum des sols est généralement capable à lui seul d'assurer un niveau élevé d'infection sur des plantes réceptives.

MOLOT (1969) a tenté de relier les pourcentages de tiges versées à la récolte et les teneurs en composés phénoliques totaux des tiges après fécondation, avec ou non hydrolyse acide (phénols sous forme d'hétérosides et phénols libres), et obtient des corrélations significatives $r = -0{,}44$ et $r = 0{,}50$ respectivement. Il considère que, après infection, il y a hydrolyse des hétérosides par des β-glucosidases fongiques, et libération plus ou moins abondante de phénols qui peuvent agir sur le développement mycélien. Les génotypes résistants seraient donc ceux, qui en fin de végétation, auraient une teneur en acide phénols libres et susceptibles d'être hydrolysés, supérieure au seuil d'inhibition des *Fusarium*.

ZUBER et GROGAN (1961) ont mis au point une méthode de sélection contre la verse fondée sur la résistance mécanique de la base des tiges. CHANG, LOESH et ZUBER (1976) obtiennent ainsi des gains de résistance mécanique très importants en trois cycles de sélection récurrente dans deux populations synthétiques. FOURIE et ROBBERTSE (1977) mettent également en évidence une réduction très importante du nombre de plantes versées dans le matériel dont les tiges étaient triées pour la résistance à l'écrasement.

Toutefois, cette méthode ne prend pas en compte le risque d'échaudage des grains, et ne doit donc pas être utilisée sans sélection parallèle pour la résistance aux pathogènes proprement dits.

Il faudrait disposer d'un test précoce de la résistance qui permettrait la sélection avant le semis au champ des familles les plus intéressantes. HOOKER (1956) a tenté de relier la pourriture des tiges à maturité à la sensibilité des mêmes génotypes à différents agents de fontes de semis, mais les corrélations qu'il obtient ne sont pas significatives. CHESNEAUX et BARRIÈRE (1978, non publié) en s'inspirant des travaux de MOLOT, ont tenté de relier la teneur quantitative et qualitative

en acides-phénols des gaines de première feuille de plantules de maïs sur treize lignées et douze hybrides à leur résistance à la pourriture de tiges en fin de végétation, mais sans pouvoir non plus mettre de relations nettes en évidence.

Le travail que nous avons réalisé sur des maïs de type précoce (indice FAO inférieur à 280) pour déboucher sur la sélection de génotypes résistants au « *Fusarium* », comprend trois parties. Après avoir résumé ce que nous savons actuellement sur le complexe parasitaire responsable de la « verse » du Maïs, nous exposerons la mise au point d'une méthode de tri des génotypes résistants dans les conditions du nord de la France, puis nous tenterons une approche des relations sensibilité, précocité de maturation, conditions de milieu qui semblent conditionner le déclenchement de l'envahissement de la base des plantes de maïs par les pathogènes.

2. — Pourriture du maïs à maturité et complexe parasitaire associé

Les pathogènes isolés de tiges attaquées sont variables d'une région de culture à l'autre (tabl. 1), mais dans tous les cas (ou presque) pour la France, des *Fusarium roseum* sont mis en évidence, qui sont considérés comme responsables de la maladie. Aux États-Unis existent des pourritures de tiges à *Diplodia zeae* (SCH.) LEV. dont l'importance a diminué ces dernières années en raison probablement d'une lutte génétique efficace (HOOKER et WHITE, 1976).

Pour ce qui est de la zone nord, la situation est relativement simple, puisque ainsi que le notaient MESSIAEN *et al.* en 1959, ce sont pratiquement uniquement des *Fusarium roseum culmorum* (SCHWABE) Sn. et H., que l'on isole des tiges pourries. Ces souches se distinguent de celles qui sont observées dans le Sud-Ouest (*F. roseum graminearum* (SCHWABE) SN. et H., SYN. *Gibberella zeae* (SCHWABE) (PETCH), par des spores plus courtes et plus trapues, leur absence de stade sexué, et leur aptitude à la conservation dans les sols sous forme de nombreuses chlamydospores, alors que *F. roseum graminearum* se conserve sur des débris de récolte. WEARING et BURGESS (1978) montrent en particulier que la plupart des souches de ce dernier type isolées d'échantillons de sols, le sont en réalité de petits fragments organiques. D'autre part, les souches de *F. roseum culmorum* isolés à Mons (Somme) de tiges de maïs ne peuvent être distinguées de celles que nous avons pu isoler de tiges et d'épis de blé, sans que l'on puisse affirmer avec certitude le caractère polyphage de celles-ci.

Les racines sont la voie principale de pénétration des *Fusarium* dans les tiges tout particulièrement en zone nord alors que, en zone sud, les galeries de Pyrale, (*Ostrinia nubilalis* HBN.) ou de Sésamie (*Sesamia nonagrioides* LEF.) ont également ce rôle. ROUHANI (1978) et MESSIAEN (Comm. personnelle) ont étudié le complexe parasitaire racinaire et ont mis en évidence que, pour les zones de culture des maïs précoces, si les *F. roseum culmorum* dominent, d'autres pathogènes tels que *Pyrenochaeta terrestris* (HANS) GORENZ, *Phialophora radicicola* CAIN, et des *Pythium* Pringsheim, en particulier du groupe *arrhenomanes-graminicola* sont également présents. ROUHANI (1978) a de plus vérifié l'agressivité des *F. culmorum*, *P. radicicola* et *Pythium* sur racines de plantules de maïs, les souches de *P. terrestris* étant peu agressives dans ces conditions. Le rôle de champignons tels que *P. radicicola* ou *Pythium* comme pathogènes primaires sur les racines de maïs doit donc être envisagé.

TABLEAU I

Principaux pathogènes isolés de tiges et racines de maïs atteintes de « Fusariose »
Main pathogens isolated from « stalk-rot » diseased maize

	Tiges - *Stalks*							Racines - *Roots*				
	Messiaen *et al.*, 1959		Rouhani 1978(*a*)		Barrière 1977(*a*)	Hooker et White (*b*) 1976 (*c*)		Messiaen *et al.*, 1959		Rouhani 1978(*a*)		
	Sud-Ouest	Versailles	Sud-Ouest	Versailles	Mons	Illinois 1949-52	Illinois 1975	Sud-Ouest	Versailles	Sud-Ouest	Versailles	Mons
Fusarium roseum graminearum	(*)		46,1	0	0	38,3	95,0	(*)		3,3		
Fusarium roseum culmorum		(*)	0	91,9	95,0				(*)		56,9	45,2
Fusarium moniliforme	(*)		1,7	1,1	1,0	32,4	31,7					
Colletotrichum graminicola	(*)		(**)				78,3					
Diplodia zeae	(*1)					71,3	5,0					
Phaeocytosporella zeae	(*)		2,6	0				(*)		0,6	0	0
Pythium species			21,7	0				(*)	(*)	28,7	3,1	1,4
Phialophora radicicola								(*)		8,9	10,6	12,3
Pyrenochaeta terrestris								(*)		27,5	1,0	14,0

(*) Isolé (*Isolated*).
(**) Présent, mais non isolé à partir de la moëlle (*Present, but not isolated from the pith*).
(*1) Observé une unique fois en France (*Observed only once in France*).
(*a*) En pourcentage de la microflore isolée (*Percent of fungi isolated*).
(*b*) En pourcentage de présence dans les plantes examinées (*Percent of plants examined*).
(*c*) En pourcentage de présence dans les parcelles observées (*Percent of fields examined*).

3. — Recherche de génotypes résistants à la « verse parasitaire »

3.1. — *Définition d'une échelle de notation*

Les travaux réalisés à ce jour ont utilisé comme indice de l'intensité de la maladie dans les familles notées le pourcentage de plantes versées après traction manuelles des plantes. Cet indice est en réalité assez largement biaisé, le symptôme verse n'étant qu'un aspect particulier de la maladie. En effet, le matériel sensible en cours d'attaque, et certaines familles sensibles à écorce épaisse, ne versent pas.

Nous avons donc défini une échelle d'intensité de l'attaque des *Fusarium* dans la base des tiges de maïs fendues longitudinalement.

Plante immature ou résistante.	0. — Pas d'attaque visible, Moelle turgescente.
Plante résistante.	1. — Pas d'attaque visible, Moelle sénescente.
Plantes sensibles.	2. — Tige attaquée, la moelle se détache de l'écorce, quelques faisceaux vasculaires peuvent être localement désolidarisés, en particulier au niveau des nœuds.
	3. — Tige attaquée, la moelle est franchement désorganisée, les faisceaux sont en grande partie désolidarisés.
	4. — Désorganisation généralisée de l'intérieur de la tige, où ne subsistent que les faisceaux.

Les demi-points étant éventuellement utilisés pour décrire des situations intermédiaires.

3.2. — *Notations de la pourriture des tiges à la récolte*

Les pourritures de tiges de maïs sont fondamentalement une maladie de la maturité, et les plantes immatures demeurent saines; aussi les notations sont-elles réalisées en fin de culture (mi-octobre en 1976, mi-novembre en 1977 et 1978).

3.2.1. *Notations de 1976* (*)

Malgré une relativement bonne maturation des plantes à la suite d'un été chaud et sec, l'intensité de la pourriture des tiges a été relativement faible par rap-

(*) En 1976 et 1977, une échelle de notation légèrement différente avait été utilisée: de 1 à 2,5 plantes immatures ou résistantes; de 3 à 4 plantes sensibles.

port à ce que l'on observe classiquement à Mons. Les notations ont porté sur une collection de lignées et d'hybrides simples et nous nous sommes particulièrement intéressés aux relations entre les notes des lignées et des hybrides.

3.2.2. *Notations de 1977 (*) et 1978*

L'attaque de « *Fusarium* » a été très importante en 1977, en particulier sur le matériel très précoce, mais la notation des hybrides plus tardifs, dont la maturation n'a pas été satisfaisante surestime probablement leur résistance. De même, en 1978, à la suite d'un printemps et d'un été froid, la maturation de l'ensemble du matériel a été médiocre. Le tableau 2 met en évidence le déficit en somme de température de ces deux dernières années après l'excédent exceptionnel de 1976.

TABLEAU 2

Sommes de températures au seuil de 6 °C (1 mai-31 octobre) à Mons
Heat-unit basis 6 °C (1st May-31th October), Mons data

Années *Years*	Somme températures seuil 6 °C *Heat-Units basis 6 °C*	Écart moyenne (%) *Distance to average (%)*
Moyenne : 1964-75	1570	
1975	1580	+ 0,6
1976	2230	+ 42,0
1977	1440	— 8,3
1978	1420	— 9,6

3.3. — *Discussion*

Les résultats, et entre-autres ceux du tableau 3, montrent que la note des lignées est un assez mauvais prédicteur de la valeur des hybrides puisque en particulier des croisements par des lignées de notes semblables conduisent à des hybrides de sensibilité nettement différentes.

Nous avons donc estimé les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison (AGC et ASC) pour la résistance (modèles de GRIFFING (1956) pour les tableaux diallèles, et d'analyse de variance à deux facteurs de LEFORT (1971) pour les croisements sur testeurs lignées ou hybrides simples) selon le modèle général suivant :

$$X_{ijk} = \mu + AGC_i + AGC_j + ASC_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

où $Xijk$ est la note observée pour la k^e répétition de l'hybride ij, μ est la moyenne générale, AGC_i et AGC_j, les aptitudes générales à la combinaison des lignées i et j, $ASCij$, l'aptitude spécifique à la combinaison du croisement ij, et εijk la variable résiduelle.

L'interprétation statistique faite sur les résultats des tableaux 4, 5 et 6 (notations de deux répétitions des 10 (ou 7) plantes centrales de la ligne) montre que les variances d'AGC et d'ASC sont significativement inférieures à l'erreur au seuil de

TABLEAU 3

Notation de la collection d'hybrides simples et AGC pour la résistance (1976, Extrait)
Score of single cross hybrid collection and GCA for stalk-rot resistance (from 1976 data)

	F2	F192	F226	F227	F186	F188	F230	F229	F478
F2	(0,7)								
F192	2,5	(2,9)							
F226	2,4	2,3	(3,4)						
F227	1,8	2,5	2,8	(2,9)					
F186	2,7	2,7	2,9	2,5	(3,0)				
F188	2,9	3,3	3,2	3,2	2,8	(3,1)			
F230	2,6	2,0	2,9	2,4	2,5	1,9	(2,5)		
F229	2,2	3,6	3,6	3,2	3,3	2,8	2,2	(2,5)	
F478	2,3	3,1	3,1	3,3	3,6	3,9	2,5	3,8	(3,8)
AGC (*)	— 0,44	— 0,07	0,10	— 0,12	0,07	0,21	— 0,50	0,31	0,44

TABLEAU 4

AGC pour la résistance et pour la date de floraison femelle, en jours (Notations de 1977)
GCA for stalk-rot resistance and mid-silking date (days) (1977 scores)

Diallèle			Testeurs-lignées					
Lignée	Résistance (*)	Floraison		Lignée	Résistance(*)	Floraison	Lignée	Résistance(*)	Floraison
F2	— 0,14	— 2,00	6 lignées testeurs	F2	— 0,15	— 2,76	F154	0,21	— 0,94
F192	0,36	— 3,81		F192	0,35	— 4,97	F218	0,42	— 0,86
F226	0,60	— 4,25		F226	0,37	— 3,13	F228	0,15	0,06
F186	— 0,02	— 0,81		F186	— 0,06	0,78	F242	— 0,24	— 1,69
F188	— 0,07	1,00		F188	— 0,15	2,43	A166	0,36	3,81
F230	— 0,53	5,56		F230	— 0,37	7,65	Co158	— 0,11	— 2,03
							Ms92	— 0,04	3,14
F229	0,01	0,81		F 229	— 0,14	— 1,86	Pol72	— 0,31	— 2,69
A654	0,08	0,44		A654	0,05	— 0,94	Pv106	0,48	3,14
W629A	— 0,49	1,19		W629A	— 0,64	0,31	W59E	0,08	— 1,03
W401	0,19	1,88		W401	0,02	— 0,03	W491	0,56	2,81
							W633	0,81	— 1,19

(*) Des AGC pour la résistance négatives signifient une diminution de la sensibilité.
(Negative value of resistance GCA means susceptibility decrease).

TABLEAU 5

AGC pour la résistance, la date de floraison femelle en jours et le taux de matière sèche du grain à la récolte. Croisements par trois testeurs hybrides simples F2 × F192, F192 × F226, F226 × F232 (notations 1978).

GCA for stalk-rot resistance, mid-silking date (days), and kernel percent dry-matter at the harvest-time. Crosses with three single-cross testors F2 × F192, F192 × F226, F226 × F232 (1978 scores).

Lignée	Résistance (*)	Floraison	Matière sèche	Lignée	Résistance (*)	Floraison	Matière sèche
F113	— 0,25	0,40	— 0,15	F244*a*	— 0,61	1,07	— 0,18
F154	0,13	0,74	— 1,88	F244*b*	— 0,59	2,07	— 0,22
F184	1,14	— 5,26	1,02	F246	— 0,69	0,07	— 0,02
F186	— 0,67	— 1,60	0,02	F247	0,50	1,40	— 0,45
F187	— 0,11	2,74	— 0,62	F249	0,13	0,40	— 0,08
F188	— 0,68	0,74	0,48	F250	— 0,22	1,40	— 0,85
F228	0,36	1,74	— 1,45	F478	0,27	— 2,26	1,08
F241	— 0,04	— 0,26	0,85	W182E	— 1,02	2,40	— 3,05
F242	0,59	— 1,16	2,15	W633	1,04	— 1,26	1,65
F243	0,70	— 3,26	1,72				

(*) Des AGC pour la résistance négatives signifient une diminution de la sensibilité. (Negative value of resistance GCA means susceptibility decrease).

1 p. 100. La part de l'ASC dans la note finale d'un hybride est souvent importante, toutefois les niveaux d'hétérosis des hybrides notés (en particulier pour les croisements entre lignées apparentées) sont différents, et cela peut, dans certains cas au moins, expliquer de fortes ASC. Les variances d'AGC sont importantes, et la sélection est donc possible sur ce critère, d'autant que, pour les 136 hybrides dont l'observation a conduit aux résultats du tableau 6 par exemple, la corrélation entre leur note et celle calculée à partir des AGC sous l'hypothèse de simple addivité est élevée ($r = 0,76$).

La répétabilité des notations intra- et inter-années est très bonne puisque les corrélations entre les différentes AGC obtenues sont $r = 0,95$ en 1977, $r = 0,94$ en 1978 et $r = 0,90$ entre 1977 et 1978.

Une bonne corrélation entre précocité de maturation et sensibilité à la verse à maturité est couramment admise. Et en effet, les corrélations entre AGC pour la résistance et AGC pour la précocité respectivement mesurée par le taux de matière sèche du grain à la récolte ou par la date de floraison femelle sont significatives au seuil de 1 ou 5 p. 100 et comprises entre 0,43 et 0,76. Toutefois, sur les notations de 1978, nous pouvons calculer les corrélations partielles entre AGC pour la résistance et AGC pour le taux de matière sèche du grain, pour de même AGC pour la date de floraison femelle, ou en inversant le rôle de ces deux derniers facteurs.

Nous obtenons des corrélations comprises entre — 0,37 et 0,22, non significatives. Ceci montre qu'il y a un biais systématique introduit par la tardiveté, mesurée par le taux de matière sèche du grain à la récolte ou par la date de floraison femelle, mais que, au sein d'un groupe de précocité donné, il y a un choix possible de génotypes ayant de meilleures AGC pour la résistance, à condition que la

précocité des hybrides notés soit suffisante pour que la maladie puisse s'exprimer.

La sélection pour la verse à maturité, actuellement, est essentiellement faite en lignée, au cours des premières générations d'autofécondations, et les tests de valeur hybride réalisés à partir de la F_4 conduisent à l'élimination des familles les plus sensibles. De plus, les hybrides simples utilisés comme testeurs de la productivité et de la précocité, qui se trouvent être des croisements entre lignées sensibles et résistantes, ne permettent pas une discrimination optimale des familles en sélection. Le tri pourrait être réalisé en croisant le matériel dès la F_3 par des testeurs respectivement sensibles et résistants, et conduisant de plus à de bonnes précocités et productivités; les notations réalisées devant être des notations de pourriture de tiges et non des notations de verse.

Parmi les lignées étudiées, les lignées à grain corné sont les plus précoces, en AGC, pour la date de floraison femelle ou pour le taux de matière sèche du grain à la récolte. F_2 et F232 semblent plutôt résistantes, tandis que F192, F226, F257 la plus précoce, semblent au contraire très sensibles. Le matériel à grain denté est généralement assez tardif, et il est difficile de choisir avec certitude des génotypes résistants. Les lignées F244*a*, F244*b*, F186 semblent assez résistantes et relativement précoces, F230 et W629A, plus tardives le semblent également, alors que F184, la plus précoce, F218, W633 et W491, semblent au contraire très sensibles. D'autre part, il apparaît possible de sélectionner des lignées transgressives pour la résistance, de précocité comparable aux géniteurs (par exemple F244*b* = (F188 × F186) 2.1.2.2.).

Les résultats obtenus à ce jour ne permettent pas de mettre en évidence les systèmes génétiques en jeu, d'autant que le biais introduit par la tardiveté limite les possibilités d'analyse. Toutefois, la sensibilité de certaines lignées telles que W633 (relativement précoce) ou W491 (plus tardive) semble se comporter de façon dominante, de même que la résistance de certaines autres telles que F232, F_2 en croisement corné × denté (précoces), F230 (tardive). La compréhension des mécanismes génétiques de la résistance est liée à celle des phénomènes de maturation, encore mal connus chez le Maïs.

4. — Approche des relations entre précocité de maturation, sensibilité au *Fusarium* et conditions de milieu

4.1. — *Résistance et sénescence*

La pourriture des tiges de maïs est fondamentalement une maladie de la maturation et une plante tardive et immature, dont le génotype est connu pour sa sensibilité en conditions normales de culture, conserve un phénotype résistant.

Ainsi, il faut sans doute considérer qu'une note inférieure à 1 (échelle § 31) est dans beaucoup de cas, plus un indice d'immaturité que de résistance, et nous pouvons rappeler la corrélation apparente voisine de 0,5 entre tardiveté et résistance. Avec WALL et MORTIMORE (1965), il faut considérer cette maladie de pourriture des tiges de maïs comme une maladie de dégradation de tissus sénescents par des parasites de « faiblesse ». PAPPELIS (1965) relie d'ailleurs la sensibilité et le taux de cellules non vivantes dans les parenchymes des tiges. Cette observation peut aussi être rapprochée de celle, classique, qui relie teneur en sucre des tiges privées ou non d'épi, et résistance à la verse parasitaire. Parallèlement, nous avons

TABLEAU 6

Notation moyenne, ASC et AGC pour la résistance des hybrides entre 17 lignées, en croisements diallèle. AGC pour la floraison femelle et le taux de matière sèche du grain des lignées (notations 1978)

Hybrid means, SCA and GCA for stalk-rot resistance in a diallel cross between 17 inbreds. GCA for mid-silking date and kernel percent dry-matter (1978 scores)

	Lignées à grain corné					Lignées à grain denté										
	F2	F192	F226	F232	F257	F113	F184	F186	F229	F230	F242	F244*a*	F244*b*	F247	A654	W491	W629A
F192	2,35																
	0,29																
F226	1,68	2,48															
	— 0,19	0,10															
F232	1,88	1,25	1,53														
	0,77	— 0,36	0,11														
F257	4,00	4,00	2,60	0,75													
	1,69	1,18	— 0,02	— 1,11													
F113	0,73	1,68	0,98	0,75	1,28												
	— 0,46	— 0,02	— 0,52	0,02	— 0,67												
F184	1,60	1,90	2,68	1,70	3,05	2,25											
	— 0,74	— 0,94	0,03	— 0,18	— 0,04	0,28											
F186	0,80	1,03	0,90	0,83	1,35	0,90	2,53										
	— 0,39	— 0,67	— 0,60	0,09	— 0,59	0,08	0,55										

F229	1,38	1,73	2,35	1,10	2,60	0,90	2,68	0,88										
	— 0,10	— 0,26	0,56	0,08	0,37	— 0,21	0,42	— 0,23										
F230	0,28	1,00	1,43	1,25	1,73	0,00	1,85	0,75	0,20									
	— 0,55	— 0,33	0,29	0,88	0,15	— 0,45	0,25	0,29	— 0,54									
F242	1,75	1,88	1,85	1,35	2,68	1,85	2,83	1,00	0,78	0,80								
	0,14	— 0,24	— 0,07	0,19	0,31	0,61	0,43	— 0,25	— 0,76	— 0,08								
F244*a*	0,75	0,85	0,95	0,50	0,50	0,95	2,65	1,85	1,33	0,80	0,88							
	— 0,32	— 0,72	— 0,43	— 0,11	— 1,32	0,25	0,80	1,15	0,34	0,46	— 0,25							
F244*b*	0,18	0,95	0,83	0,45	0,53	0,75	1,95	0,70	1,05	0,38	0,95	0,73						
	— 0,66	— 0,39	— 0,33	0,07	— 1,07	0,28	0,33	0,23	0,29	0,27	0,06	0,37						
F247	1,28	2,05	1,88	0,85	2,08	2,85	1,85	1,15	1,50	0,73	1,45	1,43	1,48					
	— 0,30	— 0,03	— 0,01	— 0,27	— 0,25	1,64	— 0,51	— 0,06	0,01	— 0,12	— 0,18	0,34	0,62					
A654	1,18	3,89	2,65	0,88	3,25	0,85	1,65	1,00	0,90	0,40	1,20	0,70	0,65	0,88				
	— 0,26	1,89	0,91	— 0,10	1,06	— 0,21	— 0,56	— 0,07	— 0,45	— 0,30	— 0,29	— 0,24	— 0,06	— 0,58				
W491	3,25	3,25	2,60	1,33	3,85	0,85	2,73	1,65	2,40	1,08	2,48	1,25	0,98	1,75	1,00			
	1,20	0,69	0,23	— 0,28	1,04	— 0,84	— 0,11	— 0,04	0,43	— 0,25	0,36	— 0,32	— 0,36	— 0,32	— 0,93			
W629A . . .	0,75	1,20	1,15	0,63	0,90	0,73	1,65	1,03	0,85	0,18	0,95	0,55	0,53	0,93	0,95	0,85		
	— 0,14	— 0,19	— 0,05	0,19	— 0,74	0,21	— 0,02	0,50	— 0,04	0,02	0,01	0,15	0,35	0,02	0,19	— 0,53		
AGC R . . .	0,06	0,57	0,38	— 0,39	0,82	— 0,31	0,84	— 0,30	— 0,02	— 0,67	0,12	— 0,42	— 0,65	0,08	— 0,06	0,56	— 0,60	
AGC FF. . .	— 4,45	— 3,79	— 4,19	— 3,72	— 4,85	4,21	— 4,25	0,28	1,48	5,21	— 0,79	1,21	1,81	2,35	4,35	4,28	0,88	
AGC MS. . .	2,33	2,49	2,29	2,42	2,45	— 2,46	2,03	0,41	0,57	— 1,19	— 0,02	— 0,99	— 0,04	— 1,71	— 3,33	— 2,73	— 2,54	

AGC R : AGC pour la résistance. Des valeurs négatives signifient une diminution de la sensibilité (*Resistance GCA. Negative values mean susceptibility decrease*).

AGC FF : AGC pour la date de floraison femelle (*Mid-silking date GCA*).

AGC MS : AGC pour le taux de matière sèche du grain à la récolte (*Kernel percent dry-matter GCA*).

noté, après MESSIAEN et LAFON (1959, ia) que les plantes qui portent deux épis, de même que les variétés à forte productivité sont souvent plus sévèrement attaquées, en raison très probablement d'une migration intense des réserves des tiges vers le grain.

Nous pouvons donc envisager deux types de plantes résistantes, soit des plantes qui conservent des tiges actives et turgescentes durant la maturation, avec le risque d'une faible productivité, soit des plantes dont la moelle sénescente serait défavorable à l'installation du pathogène.

4.2. — *Résistance et conditions de milieux*

Les attaques visibles de *Fusarium* sont observées chaque année, en fin de culture, à des niveaux de matière sèche du grain différents pour chacune des variétés et en moyenne sur l'ensemble des variétés. Par exemple, pour la variété LG 11 et pour ces quatre dernières années, l'attaque se situe à un niveau de matière sèche du grain variant de 59 à 72 p. 100 (tabl. 7).

TABLEAU 7

Caractéristiques de l'attaque de Fusarium sur la variété LG 11
Characteristic of stalk-rot attack on LG 11 variety

Année *Year*	Floraison femelle *Mid-silking date*	Date approximative d'attaque *Approximate attack date*	% M.S. grain % *Kernel D.M.*
1975	29 juillet	20 octobre	68
1976	12 juillet	20 octobre	72
1977	10 août	15 novembre	63
1978	11 août	5 novembre	59

L'évolution du grain à partir de la maturation peut être repérée par deux stades, le maximum de poids d'eau, et le palier de matière sèche du grain (DERIEUX, 1975). Les plantes ne sont régulièrement sensibles à la pourriture de tiges qu'après ce dernier stade, lorsque l'essentiel des réserves a migré. Toutefois la sensibilité semble se déclarer plus précocement, et on peut penser que des chocs en provenance du milieu soient responsables de cette sensibilisation. Les plantes tardives et trop immatures ne sont pas réceptives à ceux-ci et conservent un phénotype résistant tandis que les plus précoces expriment leur sensibilité. Nous avons ainsi observé que, dans les conditions de culture du nord de la France, les attaques précoces étaient régulièrement précédées d'une période de basses températures (en particulier températures de nuit inférieures à 7 °C). On peut donc envisager la création de lésions, métaboliques ou non, sous l'action cumulative ou non de basses températures, sans gel (« slow chilling injury » selon LEVITT, 1972) qui conduiraient à une sénescence prématurée de la plante, et donc à sa sensibilisation. Des dégâts dus aux basses températures sans gel ont déjà été décrits sur des plantes originaires de régions chaudes. Ainsi HILLIARD et WEST (1970) signalent une inhibition de la translocation de l'amidon des chloroplastes chez des plantes de *Digi-*

taria decumbens placées à des températures nocturnes de 10 °C. LEVITT (1972) note que si la reprise des translocations se fait rapidement chez la Betterave sucrière et chez un écotype nordique de Chardon canadien, elles se rétablissent au contraire très lentement chez le Haricot et chez un écotype méridional de ce même chardon. D'autre part, LEVITT note également que chez des plantes sensibles aux basses températures, la photosynthèse diminue plus rapidement que la respiration, entraînant à plus ou moins court terme des carences nutritionnelles, en particulier au niveau des racines. On peut donc considérer que les plantes de maïs, à partir d'un certain stade de leur maturation probablement variable avec les génotypes, soient sensibles aux basses températures qui, par des processus

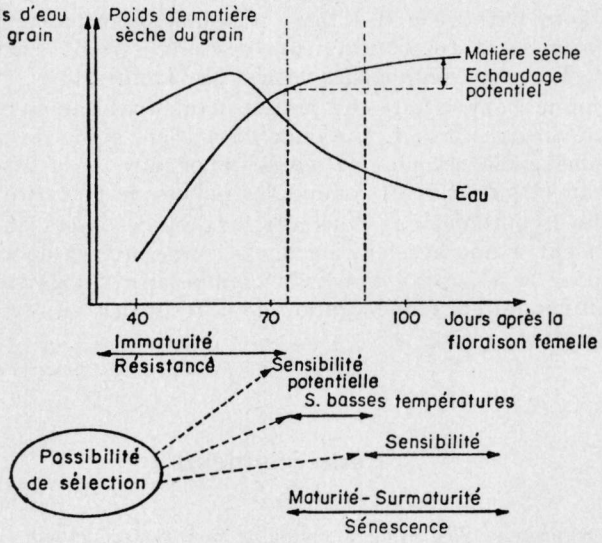


FIG. 1. — *Évolution des poids d'eau et de matière sèche du grain de maïs après floraison. Interactions hypothétiques entre sensibilité aux* Fusarium *et basses températures.*
Kernel weight of water and dry matter of maize after silking. Hypothetical relationships between Fusarium *stalk-rot susceptibility and low-temperatures.*

non connus, mais sans doute parallèles à ceux décrits par les différents auteurs cités, conduisent à une accélération de la sénescence, et donc à la sensibilisation, expliquant ainsi les niveaux de maturité différents auxquels se situent les attaques chaque année.

Suivant cette hypothèse, on peut envisager un schéma tel que celui de la figure 1, qui reste à confirmer, avec les trois phases successives de résistance, de sensibilité potentielle, et de sensibilité au *Fusarium*, le début de la sensibilité potentielle étant également celui de la sensibilité aux basses températures, et la maturation entraînant probablement très régulièrement la sénescence et la sensibilité. La sélection pour la résistance à la verse parasitaire dans les conditions du nord de la France devrait donc comprendre cet aspect, et pourrait s'orienter ainsi : d'une part sélectionner pour une plus grande résistance aux chocs en provenance du milieu pendant la période de sensibilité potentielle, et/ou réduire cette dernière; d'autre part sélectionner pour une moindre sensibilité intrin-

sèque aux pathogènes pendant cette même période, et durant la fin de la maturation, phase au cours de laquelle une bonne résistance mécanique pourrait être suffisante, et est d'ailleurs peut-être la seule possible.

5. — Conclusion

A partir des résultats obtenus, et selon les schémas de sensibilisation que nous avons considéré, nous avons défini plusieurs aspects de la sélection des maïs pour la résistance à la pourriture des tiges dans les conditions du nord de la France.

La mycoflore pathogène des tiges semblant pratiquement limitée aux *F. roseum culmorum*, les travaux ultérieurs devront surtout s'attacher aux rôles respectifs des différents pathogènes isolés sur racines.

La sélection ne peut se faire que sur des plantes suffisamment précoces, ayant un niveau d'hétérosis suffisant. Un taux de matière sèche du grain supérieur à 60 p. 100 et une sénescence plus ou moins importante de la base de la tige sans attaque peuvent être considérés comme des indices de maturité et de résistance.

Suivant les hypothèses que nous avons faites, les chocs de basses températures conduiraient à une accélération de la sénescence et donc à la sensibilité. La sélection pour la résistance aux basses températures à partir d'écotypes d'altitude pourrait conduire à l'amélioration de la résistance en retardant le moment de la sensibilisation.

Reçu pour publication en février 1979.

Remerciements

Nous remercions nos collègues de la station de Mons pour leurs aides et conseils durant la réalisation de ce travail. Nous sommes également reconnaissants à nos collègues de l'I.N.R.A. qui ont bien voulu formuler critiques et suggestions lors de l'élaboration de ce texte.

Summary

Breeding early maize for Fusarium *stalk-rot resistance*

Fusarium stalk-rot is the most important disease of early maize (FAO index inferior to 280) in northern France. Pathogens isolated from diseased stalks are almost exclusively *Fusarium roseum culmorum* (SCHWABE) Sn. and H. (95 p. 100 or more of the isolated fungi). These strains have no sexual stage, short and thick spores and overwinter as soil chlamydospores.

Usually stalk-rot susceptibility is measured by the percentage of broken stalks of each genotype, and mostly often of each inbred genotype. In this paper disease reaction was rated using a new scale, after splitting lengthwise the lower part of hybrid plants' stalks:

Not ripened or resistant plant	0. — No disease evident. Turgescent pith.
Resistant plant	1. — No disease evident. Senescent pith.

Susceptible plant

2. — Diseased stalk, pith beginning to separate from the rind. Some vascular bundles may be isolated particulary at node level.

3. — Diseased stalk, pith shredding, most of the vascular bundles are isolated.

4. — Complete shredding of the stalk pith in which only vascular bundles remain.

Half points were used to describe intermediate situations.

Analysis of variance was computed using GRIFFING' method for diallel crosses or an interaction model analysis for test crosses. General and specific combining ability effects for disease evaluation are highly significant, and some very early french inbreds have very good GCA value for resistance. Breeding for GCA would be possible by crossing families from the F_3 generation onto susceptible and resistant early testors.

Fusarium stalk-rot is typically a ripening plant disease, and plants that are too late always seem resistant. Relationships between stalk-rot susceptibility, ripening and environnemental conditions are considered. The hypothesis is presented that slow chilling injury, during the last period of kernel filling, could induce the susceptibility of the plants, probably by hastening senescence.

Références bibliographiques

CALVERT D. H., ZUBER M. S., 1966. Improved technique for inoculating stalk rots in Corn (*Zea mays* L.). *Agron. J.*, **58**, 456.

CAPPELLINI R. A., 1959. A comparaison of techniques and sites of inoculations in field corn artificially inoculated with *Gibberella zeae* (Schw.) Petch. *Plant. Dis. Reptr*, **43** (2), 177-179.

CASSINI R., 1973. État actuel des principales maladies du maïs. *Phytiatrie, Phytopharmacie*, **22**, 7-18.

CHANG M. S., LOESCH P. J., ZUBER M. S., 1976. Effect of recurrent selection for crushing strenght on morphological and anatomical stalk straits in Corn. *Crop Sci.*, **16** (5), 621-625.

DERIEUX M., 1975. La précocité du maïs. *Colloque Eucarpia*, 8e *Congrès international de la section Maïs-Sorgho*, Paris-Versailles, 15-16-17 septembre 1975, 128-160.

FOURIE A. P., ROBBERTSE P. J., 1977. Selection criteria for stalk quality in *Zea mays* L. *Agroplantea*, **9** (2), 55-60.

GRIFFING B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austr. J. biol. Sci.*, **9**, 463-493.

HILLIARD J. H., WEST S. H., 1970. Starch accumulation associated with growth reduction at low temperature in tropical plant. *Science*, **168**, 494-496.

HOOKER A. L., WHITE D. G., 1976. Prevalence of corn stalk rot fungi in Illinois. *Plant. Dis. Reptr*, **60**, 1032-1034.

HOOKER A. L., 1956. Association of resistance to several seedling root, stalk, and ear diseases in corn. *Phytopathology*, **46**, 379-384.

LEFORT G., 1971. Cours de statistiques - Analyse de variance. *Document polycopié, I.N.A.*, Paris, 93-109.

LEVITT J., 1972. *Response of plant to environnemental stresses.* Academic Press New-York.

MENSAH R. A., ZWATZ B. G., 1975. Studie über die Stengel Bruchkrankheit des Maises (Zea may L.) der Krankheitcomplex mit besonderer Berücksichtigung der möglichkeisten einer künstlichen Infektion. *Pflanzenschutz Berichte*, **44** (11, 12), 162-191.

MESSIAEN C. M., LAFON R., MOLOT P. M., 1959. Nécroses des racines, pourritures des tiges, et verse parasitaire du maïs. *Ann. Epiphyties* (4), 441-474.

MESSIAEN C. M., LAFON R., 1956. L'intérêt des méthodes de contaminations artificielles dans l'amélioration du maïs. *Ann. Amélior. Plantes*, **6** (3), 383-390.

MOLOT P. M., 1969. Recherches sur la résistance des maïs à l'Helminthosporiose et aux Fusarioses. II. Facteurs de résistance. *Ann. Phytopathol.*, **1** (3), 353-366.

PAPPELIS A. J., 1965. Relationship of seasonnal changes in pith condition ratings and density to *Gibberella* stalk-rot of corn. *Phytopathology*, **55**, 623-626.

ROUHANI H., 1978. Étude de la microflore fongique pathogène sur racines et tiges de maïs. *Thèse doctorat ingénieur, Université des Sciences et Techniques du Languedoc*, Montpellier, 125 pages ronéotypées.

WALL R. E., MORTIMORE C. G., 1965. The growth pattern of corn in relation to resistance to root and stalk-rot. *Can. J. Bot.*, **43**, 1277-1283.

WEARING A. H., BURGESS L. W., 1978. Distribution of *Fusarium roseum « graminearum »* group I and its mode of survival in eastern Australia wheat belt soils. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **69** (3), 429-442.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 305-310.

Détermination du caryogramme de *Cichorium intybus* L.

M. DUJARDIN, B.-P. LOUANT et J.-P. TILQUIN

Laboratoire de phytotechnie tropicale et subtropicale,
Université Catholique de Louvain,
Place Croix du Sud, 3, Sc. 15 D
B 1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

Résumé

La garniture chromosomique de *Cichorium intybus* L. est étudiée. La technique classique de coloration au Feulgen est utilisée pour déterminer la longueur chromosomique, le rapport entre longueurs des bras chromosomiques, l'indice centromérique et la présence de constrictions. Cette technique ne permet pas d'identifier et de caractériser tous les chromosomes de *C. intybus*.

Introduction

La garniture chromosomique de *Cichorium intybus* L. n'a pas encore fait l'objet d'une analyse détaillée. Les seules informations relatives à la caryologie de cette plante concernent seulement son nombre chromosomique. Mis à part JAVORCIKOVA (1970) et MAJOVSKY *et al.* (1970) qui signalent un nombre de base 10, la plupart des auteurs (DARLINGTON et WYLIE, 1955) rapportent $x = 9$ pour *Cichorium intybus* L.

Outre son intérêt économique, cette espèce constitue aussi un matériel favorable à une étude cytologique : ses chromosomes peu nombreux sont de dimensions acceptables et relativement aisés à observer.

Dans la présente étude, nous proposons un examen morphologique des chromosomes de *Cichorium intybus* L. Au moment d'entamer une étude cytogénétique approfondie de cette plante, il convient, au préalable, de trouver des critères d'identification de chaque paire chromosomique. En effet, la connaissance plus approfondie de son caryotype pourra contribuer à une meilleure compréhension des variations phénotypiques qu'elle présente.

Matériel et méthodes

Le matériel utilisé provient d'une collection existant à la Faculté des Sciences agronomiques de l'Université Catholique de Louvain (Belgique). Toutes les observations sont réalisées à partir d'un même plant.

Des radicules en pleine croissance, prélevées directement sur la racine principale placée en aquaculture, sont prétraitées durant 3 heures à l'hydroxyquinoléine 0,002 M, puis fixées une nuit dans l'alcool acétique 3:1.

La technique de coloration est la méthode classique de Feulgen décrite dans SHARMA et SHARMA (1965). Le matériel est hydrolysé pendant 10 minutes dans HCl N à 60 °C et placé durant 2 à 3 heures dans le réactif de Schiff. Les radicules dont les méristèmes sont bien colorés en rouge-violet, sont conservées au réfrigérateur dans l'eau distillée jusqu'au moment de l'emploi.

La réalisation de l'écrasement est rendue plus facile par un traitement des radicules à la pectinase en solution aqueuse à 3 p. 100 durant 30 à 60 minutes. Après un rapide rinçage à l'eau, le méristème radiculaire est écrasé dans une goutte d'acide acétique à 45 p. 100.

Parmi les nombreuses plaques métaphasiques observées, nous avons retenu les 5 plus nettes. Les chromosomes sont examinés au moment où leurs chromatides sont clairement visibles; il est indispensable qu'ils soient bien dispersés et disposés dans un même plan.

Les cellules en métaphase ont été photographiées et le négatif agrandi à l'aide d'un projecteur. Chaque chromosome, chaque bras chromosomique, grossi 17 000 fois, a été mesuré au mm près. L'erreur est théoriquement de l'ordre de 1 p. 100 au niveau du chromosome.

Une analyse statistique — analyse de variance et comparaison des longueurs moyennes par la méthode de la plus petite différence significative — a été réalisée.

La position du centromère est déterminée selon les paramètres définis par LEVAN, FREDGA et SANDBERG (1964) : différence entre longueurs du bras long et du bras court ($d = l - s$), rapport entre longueurs du bras long et du bras court $\left(r = \frac{l}{s}\right)$, indice centromérique $\left(i = \frac{100\ s}{s + l}\right)$.

Résultats et discussion

La figure 1 montre une métaphase mitotique du plant de *Cichorium intybus* L. examiné. Cet individu diploïde possède $2n = 2x = 18$ chromosomes.

Dans le tableau 1 sont indiqués les longueurs moyennes et l'écart-type (en μm) de chaque bras chromosomique et du chromosome entier. Les paires de chromosomes y sont classées par ordre de longueur décroissante.

Il ressort d'un premier examen des longueurs moyennes des chromosomes que la garniture chromosomique peut être partagée en 2 groupes : les chromosomes du premier groupe (paires I, II, III et IV) mesurent de 2,4 à 2,1 microns, alors que ceux du second groupe (paires V, VI, VII, VIII et IX) ne dépassent pas 1,8 micron.

A l'intérieur de l'un et l'autre groupe, il n'est statistiquement pas possible d'identifier chaque chromosome d'après sa longueur réelle, en raison des trop faibles différences.

La position du centromère de chaque paire de chromosomes est définie au tableau 2 : celui-ci indique que les 9 chromosomes possèdent un centromère médian ou submédian.

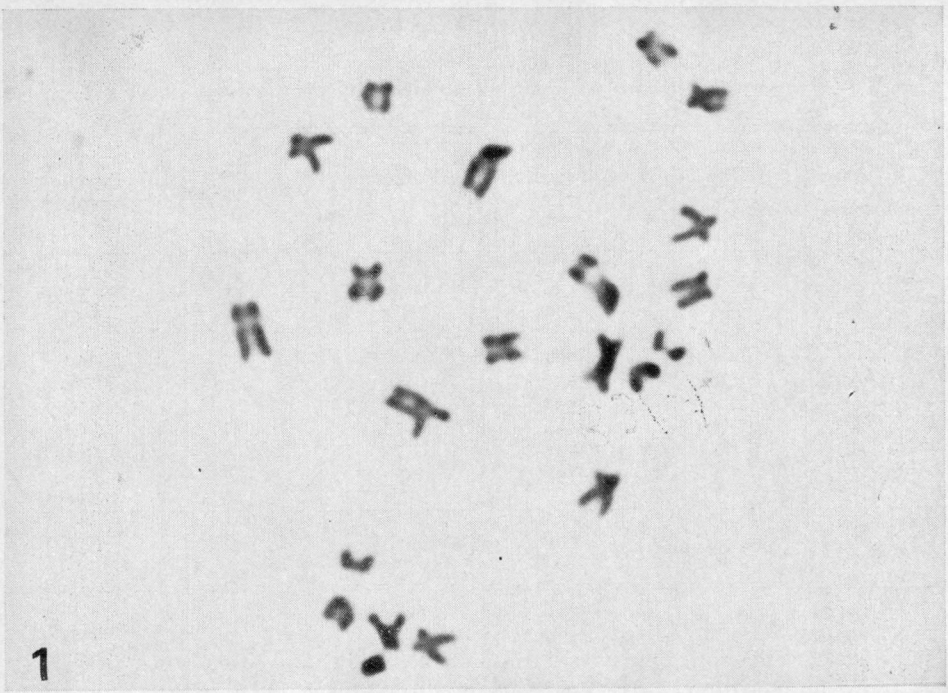


FIG. 1. — *Plaque métaphasique observée sur racine de* Cichorium intybus *L.* (4 000 x).

L'indice centromérique nettement plus faible permet d'isoler le chromosome IV au sein du premier groupe défini : celui-ci est submétacentrique, alors que les paires I, II et III sont métacentriques. De plus, les paires I et II sont aisément

TABLEAU I

Longueur moyenne (en μ) et écart-type du chromosome et des bras chromosomiques chez Cichorium intybus *L.*

Paire de chromosomes	Longueur		
	Bras court s	Bras long l	Chromosome $t = s + l$
I	0,99 ± 0,067	1,38 ± 0,083	2,37 ± 0,136
II	0,92 ± 0,072	1,32 ± 0,066	2,24 ± 0,136
III	0,89 ± 0,063	1,31 ± 0,062	2,20 ± 0,121
IV	0,74 ± 0,043	1,38 ± 0,052	2,13 ± 0,094
V	0,73 ± 0,043	1,05 ± 0,072	1,78 ± 0,114
VI	0,67 ± 0,051	1,00 ± 0,064	1,67 ± 0,105
VII	0,60 ± 0,042	1,05 ± 0,055	1,65 ± 0,088
VIII	0,60 ± 0,048	1,02 ± 0,047	1,62 ± 0,087
IX	0,52 ± 0,052	1,00 ± 0,057	1,52 ± 0,087

TABLEAU 2

Position du centromère, différence entre le bras long (l) *et le bras court* (s), *rapport* (r) *entre bras long et bras court et indice centromérique* (i) *des chromosomes de* Cichorium intybus *L.*

Paire de chromosomes	Position du centromère	Différence $d = l - s$	Rapport $r = l/s$	Indice centromérique $i = 100\ s/t^*$	Longueur relative
I	*m*	0,39	1,39	41,8	100,0
II.	*m*	0,40	1,43	41,1	94,5
III	*m*	0,42	1,47	40,4	92,8
IV	*sm*	0,64	1,86	34,7	89,9
V.	*m*	0,32	1,44	41,0	75,1
VI	*m*	0,33	1,49	40,1	70,5
VII	*sm*	0,45	1,75	36,4	69,6
VIII	*sm*	0,42	1,70	37,0	68,4
IX	*sm*	0,48	1,92	34,2	64,1

m : médian; *sm* : submédian; $t^* = l + s$.

repérables car elles sont pourvues d'une zone achromatique située sur le bras court et séparée du centromère par une portion chromatique. Cette zone achromatique correspond vraisemblablement à une région allocyclique. Le chromosome III qui est également métacentrique ne montre pas cette zone pâle sur le bras court.

Le second groupe comprend deux paires de chromosomes métacentriques (V, VI) et 3 submétacentriques (VII, VIII, et IX). Les chromosomes V et VI sont tellement semblables du point de vue de leur longueur et de la position de leur centromère qu'il est pratiquement exclu de les distinguer.

Cette même remarque s'applique aux paires VII et VIII : aucune différence significative n'existe entre elles, ni quant à la longueur, ni quant à la position du centromère.

La faible dimension du chromosome IX est caractéristique; cependant elle ne le distingue pas significativement du chromosome VII. En outre son indice centromérique apparaît comme le moins élevé du lot. Nos observations nous amènent encore à noter qu'un des chromosomes de la paire IX est toujours plus court et possède un indice centromérique sensiblement plus élevé que celui qui logiquement doit être son homologue.

Ces données permettent d'établir le caryotype de *Cichorium intybus* L. : les chromosomes y ont été groupés par paires numérotées en chiffres romains. Ce caryotype est encore représenté schématiquement par un idiogramme (fig. 2 et 3).

Conclusion

L'étude présentée constitue une première approche de la morphologie des chromosomes de *Cichorium intybus* L. La méthode classique de coloration des chromosomes (Feulgen) utilisée ici ne permet pas d'identifier tous les chromosomes

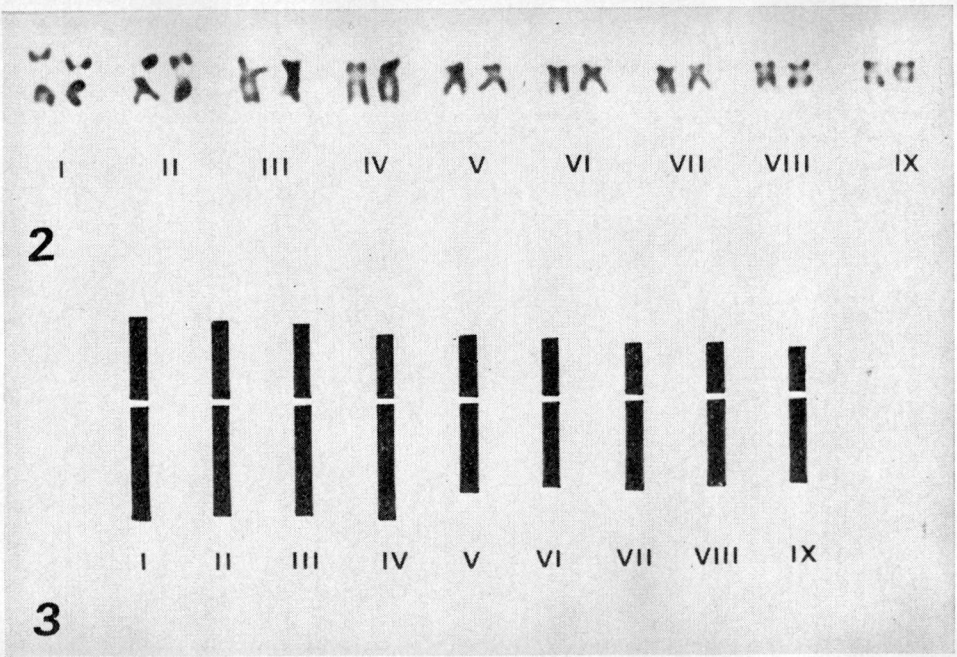


FIG. 2. — *Caryotype de* Cichorium intybus.
FIG. 3. — *Idiogramme de* Cichorium intybus.

en raison de discontinuités morphologiques trop faibles. Aussi, est-il souhaitable de compléter ces premières observations, en recherchant, grâce à d'autres techniques de coloration, la manière de caractériser chaque chromosome de façon plus précise.

Reçu pour publication en mars 1979.

Remerciements

Cette étude a été subventionnée par l'Institut belge pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A.).

Nous adressons nos sincères remerciements à M^me^ Christine BOCHKOLTZ-MAUFROID, ingénieur agronome IRSIA qui nous a très aimablement procuré le matériel indispensable à cette étude.

Summary

Determination of the karyogram of Cichorium intybus *L.*

The chromosome complement of *Cichorium intybus* L. is studied. The conventional Feulgen stain procedure is used in order to determine chromosome length, ration between arm lengths, centromeric indices and presence of constrictions. This technique appears not satisfactory for the identification and characterization of all *C. intybus* chromosomes.

Références bibliographiques

DARLINGTON C. D. et WYLIE A. P., 1955. *Chromosome atlas of flowering plants*, ed. 2: XIX +, Allen et Unwin, London, 519 p.

JAVORCIKOVA D., 1970. B chromosomes in *Cichorium intybus* L. from Slovak localities. *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comenianae Bot.*, **16**, 73-76.

LEVAN A., FREDGA K., SANDBERG A. A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* (Lund.), **52**, 201-220.

MAJOVSKY J. *et al.*, 1970. Index of chromosome numbers of Slovakian flora (Part 2). *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comenianae Bot.*, **18**, 45-60.

SHARMA A. K., SHARMA A., 1965. *Chromosomes techniques; theory and practice.* Butterworths London, 474 p.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3) 311-323

Observations sur l'organogenèse des bourgeons de plants de *Vitis vinifera* cultivés *in vitro*

A. C. BERNARD et G. MUR

Laboratoire de Recherches de la Chaire de Viticulture, I.N.R.A., Centre de Recherches de Montpellier, 34060 Montpellier Cedex
et
Laboratoire de Cytologie végétale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc 34060 Montpellier

Résumé

Cette étude envisage, en faisant appel aux méthodes de l'histologie végétale, l'organisation du bourgeon terminal et des aisselles foliaires de plants de *Vitis vinifera* cultivés *in vitro* après traitement par thermothérapie.

Elle montre que le bourgeon terminal, rudimentaire, comporte au plus trois ébauches foliaires, tandis que les bourgeons axillaires, au nombre de deux ou trois par aisselle, forment « un complexe gemmaire ».

Les bourgeons axillaires ont une structure simple, limitée généralement à deux ébauches foliaires. Par contre, ils n'ont pas la même valeur organogène et physiologique. Le plus volumineux a valeur de prompt-bourgeon tandis que les autres possèdent, selon toute vraisemblance, les potentialités de bourgeons latents.

Introduction

Il y a une vingtaine d'années que la culture *in vitro* des différents organes de la Vigne (embryons, bourgeons, sommets végétatifs en croissance) a pris un essor important, notamment dans le cadre du traitement des viroses par thermothérapie.

A ce propos, nous mentionnerons les tout premiers travaux de R. Galzy et G. Mur, au cours des années 1959-1961. Ce type de recherches s'est multiplié dans les pays où la Vigne occupe une place non négligeable sur le plan socio-économique.

La culture d'organes de la Vigne *in vitro*, entreprise en vue de son traitement par thermothérapie, fait principalement appel à la multiplication végétative par bouturage herbacé sur milieu nutritif gélosé, en conditions stériles, selon les tech-

niques habituelles des cultures de tissus (MOREL, 1944, 1948) adaptées au matériel considéré.

La mise en culture initiale *in vitro*, réalisée au printemps (mai ou juin) pour faciliter la réussite, utilise des boutures de 2 à 3 cm de long, réduites à une portion d'entre-nœud pourvue au sommet d'un bourgeon axillaire qui prend de ce fait valeur de « bourgeon terminal ». Ces boutures sont prélevées dans les parties médianes et distales d'un rameau principal d'une souche en voie de croissance, généralement établie en plein champ. Dans ces conditions, les premiers plants miniaturisés obtenus *in vitro* sont généralement issus non pas du bourgeon latent mais du prompt-bourgeon.

Les bouturages ultérieurs ou repiquages que fournissent ces plants initiaux miniaturisés aboutissent à l'obtention d'individus chez lesquels les caractères juvéniles sont quasiment seuls représentés. Ils rappellent ceux observés au cours des premiers stades de la croissance des individus issus de semis, en particulier par :

— phyllotaxie spiralée de rapport voisin de 2/5,
— bourgeons axillaires effilés et de taille réduite,
— absence de ramification secondaire,
— tige à structure juvénile,
— absence de méristèmes inflorescentiels, ...

Compte tenu, vraisemblablement, des conditions imposées *in vitro*, l'axe feuillé que l'on obtient ne se ramifie pas (ou très rarement). De ce fait, ses bourgeons axillaires sont qualifiés de latents. Sous l'angle du comportement physiologique du bourgeon, ce qualificatif est donc utilisé à bon escient. Mais qu'en est-il de leur valeur morphologique?

S'agit-il de bourgeons latents ou de prompts-bourgeons au sens accordé à ces termes dans le cas de la Vigne adulte? De plus, ces deux types de bourgeons coexistent-ils ici comme il est de règle chez la vigne adulte où ils forment les yeux ou groupements gemmaires.

Matériel et méthodes

Nos observations de morphogenèse ont porté sur tout un ensemble de variétés de *Vitis vinifera* et sur d'autres espèces ou croisements interspécifiques du genre *Vitis* traités par thermothérapie, depuis le tout début de la mise au point de cette technique que nous appliquons encore.

Mais, l'étude de l'organisation structurale des aisselles foliaires a été faite uniquement sur huit plants « d'Ugni blanc » à feuilles laciniées, cultivar de *Vitis vinifera* remarqué en Charentes. Les plants miniaturisés, issus d'un repiquage réalisé fin août, subissent le traitement thermique à 35 °C. C'est au moment où ils ont émis 12 ou 13 feuilles étalées (fin du mois de février) que sont prélevés et fixés le bourgeon terminal et les aisselles de rangs différents. Ces pièces sont fixées au mélange F.A.A. doux (formol, acide acétique, alcool éthylique à 30 p. 100), puis traitées selon les techniques classiques de l'histologie végétale pour l'observation en microscopie photonique (inclusions dans l' « histomed », coupes sériées, colorations variées, lames rendues permanentes par montage au Baume du Canada).

Résultats

Les observations histologiques concernant l'axe caulinaire de plants miniaturisés de cultivars de *Vitis vinifera* ou de croisements interspécifiques du genre *Vitis*, développés *in vitro*, sont peu abondantes (FAVRE, 1973, 1977) et, plus précisément, les données relatives à la structure des aisselles foliaires nous semblent faire complètement défaut. Aussi, les résultats que nous avons obtenus seront-ils présentés essentiellement sous forme de clichés photographiques.

1. — *Le bourgeon terminal*

Le bourgeon terminal atteint 3 à 5 mm dans sa plus grande dimension. Il est constitué par une ébauche foliaire enveloppante, repliée en gouttière selon sa nervure médiane, à l'image d'une coquille bivalve, qui abrite d'autres ébauches foliaires d'initiation plus récente, donc plus fragiles (fig. 1).

Chez le cultivar étudié, nous n'avons jamais observé plus de 3 ébauches foliaires dont l'une à l'état de primordium. De ce fait, son architecture rappelle celle qu'on peut observer au tout début de la croissance des plants issus de semis et s'écarte de celle qui caractérise l'état adulte. Son organisation est donc simplifiée (fig. 2 à 4), marquée par un apex oblique par rapport au dernier primordium foliaire érigé. A son intérieur, la mise en place des initiums gemmaires axillaires se fait précocément puisqu'ils sont déjà bien marqués au niveau de l'ébauche foliaire médiane. L'axe végétatif (mesuré entre l'apex et l'aisselle de l'ébauche foliaire enveloppante) atteint 200 à 500 microns selon l'état de développement du bourgeon terminal considéré.

2. — *Les bourgeons axillaires*

Ils sont encadrés par des lames stipulaires blanchâtres. De forme allongée dans la partie distale de l'axe feuillé, ils sont plus globuleux dans la partie basale. Ils mesurent 2 à 3 mm dans leur plus grande dimension et sont le plus souvent translucides (fig. 5).

L'organisation structurale des aisselles se complique en direction basale.

Au niveau de la première feuille étalée, comptée à partir du bourgeon terminal, on n'observe généralement qu'un seul bourgeon à structure simple (fig. 6).

Au niveau de la seconde feuille étalée, les bourgeons axillaires sont maintenant au nombre de deux dans bien des cas (fig. 7 et 8). Leur organisation structurale reste cependant simple.

A partir de la troisième feuille, mais surtout au niveau des aisselles sous-jacentes, les bourgeons peuvent être au nombre de trois (fig. 9 et 10) mais alors situés dans des plans différents. Ils constituent un « complexe gemmaire ». Toutefois, leur organisation reste encore très simple puisque seul l'un d'eux, en position médiane dans bien des cas, possède deux ébauches foliaires.

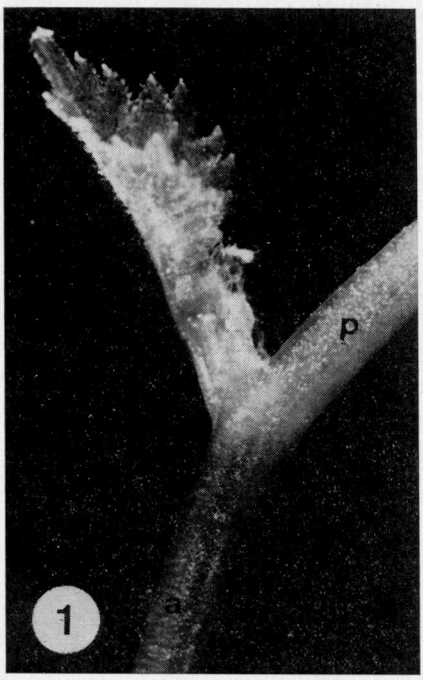
En définitive, ce groupement de deux ou trois bourgeons que nous nommons « complexe gemmaire » ou « œil », par comparaison avec ceux de la plante adulte, s'en distingue néanmoins par une structure très simple, ne dépassant pas le stade de deux ébauches foliaires.

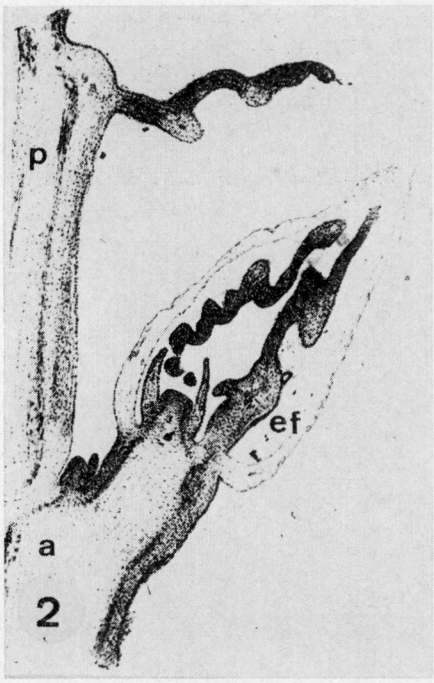
FIG. 1. — « *Bourgeon terminal* » *d'une bouture cultivée* in vitro × 10.
a = axe porteur; *p* = pétiole de la première feuille étalée.
N.B. : les différents niveaux mentionnés sont comptés à partir du bourgeon terminal.

FIG. 2. — *Coupe sagittale passant par le plan formé par le bourgeon terminal et le pétiole de la première feuille* × 40.
ef = ébauche foliaire

FIG. 3. — *Même type de coupe.*
Le dernier primordium foliaire formé est hors du plan du document × 100.
ma = méristème apical; *s* = stipule; *b* = ébauche gemmaire

FIG. 4. — *Coupe sagittale pratiquée dans un plan perpendiculaire au précédent* × 250.
pf = primordium foliaire





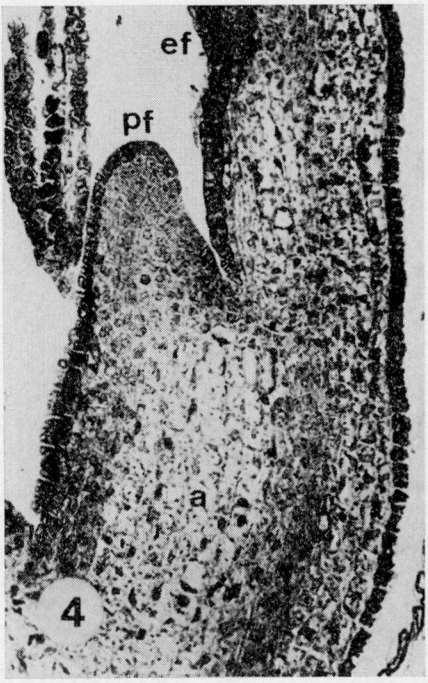


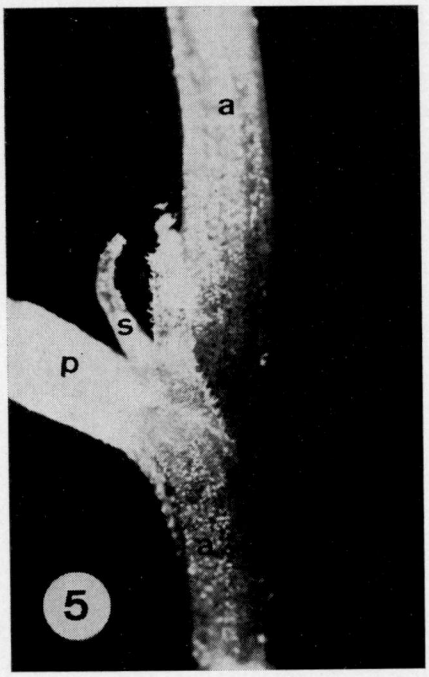
FIG. 1, 2, 3, 4.

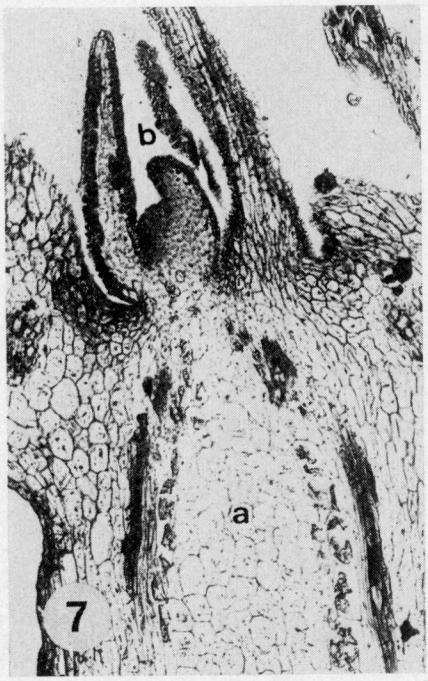
FIG. 5. — « *Bourgeon axillaire* » *de la 6e feuille étalée* × 10.

FIG. 6. — *Coupe sagittale dans le plan axe porteur* (a) — *pétiole* (p), *au niveau de la première feuille étalée* × 100.

FIG. 7. — *Bourgeon axillaire simple, vue en coupe longitudinale selon un plan bissecteur de l'angle formé par l'axe porteur et le pétiole* × 100

FIG. 8. — *Bourgeon axillaire double, observé au niveau de la seconde feuille étalée* × 100.





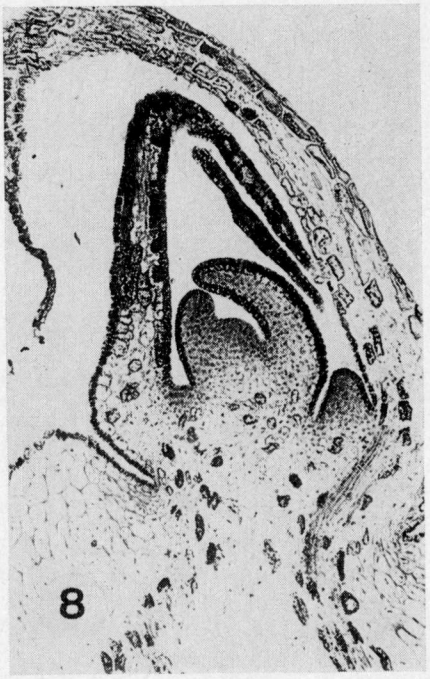


FIG. 5, 6, 7, 8.

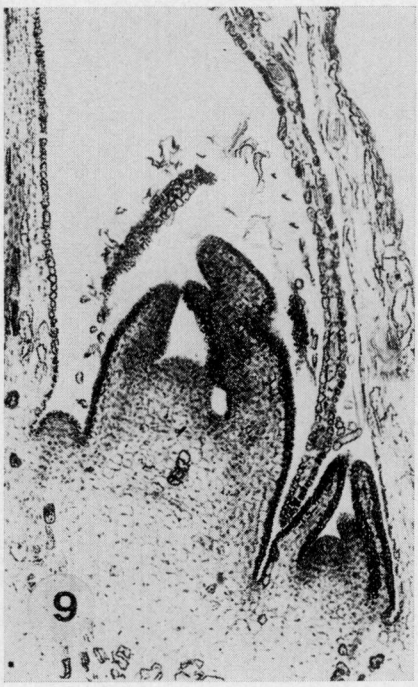
FIG. 9. — *Aisselle comportant 3 bourgeons, observée au niveau de la 4e feuille* × 100.

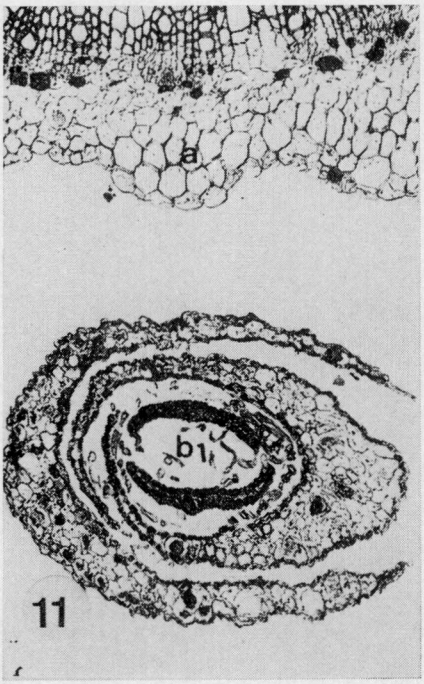
FIG. 10. — *Même type de coupe. Noter le développement inégal des bourgeons* × 100.

FIG. 11 et 12. — *Coupes à deux niveaux différents d'un complexe axillaire.*

FIG. 11. — *Le plan phyllotaxique du prompt-bourgeon est perpendiculaire au plan axe porteur — pétiole* × 100.
b_1 = prompt-bourgeon

FIG. 12. — *Le plan phyllotaxique du bourgeon* (b_2), *situé au-dessus du précédent, est perpendiculaire au plan du prompt-bourgeon* (b_1) × 100.





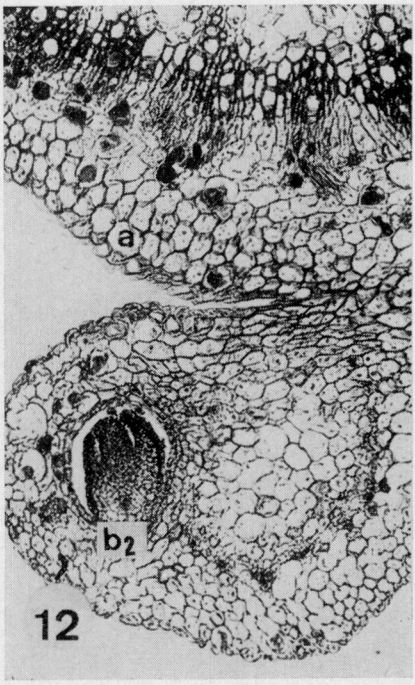


FIG. 9, 10, 11, 12.

Discussion

Cette étude des aisselles pétiolaires montre que leur organisation est comparable à celles observées chez les plants de semis, au cours des premières étapes de leur croissance. Mais notre propos n'ira pas plus avant dans cette comparaison qui sort du cadre de cette note.

En effet, ce qui nous paraît le plus important, c'est bien la valeur organogène qu'il convient d'attribuer à ces bourgeons axillaires. Indubitablement, il en existe un qui possède une « sorte d'avance morphologique et organogène ».

La figure 11, représentant une aisselle de rang 8, montre les positions relatives de l'axe porteur, du pétiole et du bourgeon. Bien que ce bourgeon doive à l'avenir présenter une phyllotaxie spiralée lors d'un stade ultérieur de son développement, au stade de 2 ou 3 ébauches foliaires (cas de la figure), on observe un plan de phyllotaxie qui est à peu près perpendiculaire à celui défini par l'axe porteur et le pétiole.

Or nous savons que le rameau de Vigne adulte est organisé de telle sorte que le plan de phyllotaxie du rameau anticipé, issu du développement du prompt-bourgeon, est perpendiculaire au plan phyllotaxique du rameau principal.

Donc, par référence, le bourgeon qui nous occupe ici a valeur de « prompt-bourgeon ».

Par contre, la figure 12 montre un bourgeon à organisation plus simple dont le plan de phyllotaxie est perpendiculaire à celui du prompt-bourgeon sus-jacent (fig. 11) et, de ce fait, parallèle au plan déterminé par l'axe porteur et le pétiole. Nous sommes alors amenés à le considérer comme ayant valeur de « bourgeon latent ».

Les données fournies par les observations précédentes sont en parfaite concordance avec celles rencontrées, chez la Vigne adulte, sur un rameau en cours de croissance. Chez celui-ci, on note qu'effectivement le prompt-bourgeon s'initie et s'organise avant le bourgeon latent. Ceci a d'ailleurs fait dire, en langage imagé, que « le bourgeon latent est fils du prompt-bourgeon ».

Nous pouvons encore avancer qu'au cours des repiquages successifs du bouturage *in vitro*, c'est le prompt-bourgeon, et lui seul, qui entre en croissance, édifie le rameau feuillé et, par phénomène de dominance, empêche normalement tout développement des autres bourgeons du complexe.

Ainsi donc, ce type de multiplication, tel qu'il est pratiqué actuellement, fait que tous les axes feuillés obtenus et réutilisés en repiquages ont valeur de « prompt-bourgeons ». Mais est-ce là l'une des causes, sinon la cause, responsables de l'absence de méristèmes inflorescentiels (vrilles, inflorescences) ? Nous croyons pouvoir avancer cette hypothèse. En effet, l'un de nous (Mur, 1978) a observé, sur un repiquage de « Pinot meunier », l'absence de développement en axe végétatif du méristème correspondant au « prompt-bourgeon », mais la formatiPn de fleurs qui évoluèrent en petites baies dont la croissance fut prématurément arrêtée.

De ce fait, pour obtenir *in vitro* la formation d'inflorescences, voire ultérieurement de baies, ne conviendrait-il pas, lors du bouturage initial, de provoquer le développement du bourgeon latent et ce également au cours des repiquages ultérieurs. Pour ce faire, on pense tout naturellement à la mise en œuvre de la microchirurgie en supprimant, par exemple, le premier bourgeon qui se développe pour favoriser l'entrée en croissance des autres.

Conclusion

L'étude histologique des aisselles foliaires de plants de *Vitis vinifera* cultivés *in vitro* nous permet de retenir les faits essentiels suivants :

1° Le bourgeon terminal, rudimentaire, comporte au plus trois ébauches foliaires.

2° Les bourgeons axillaires sont au nombre de deux ou trois par aisselle et forment un « complexe gemmaire ».

3° Leur structure morphologique simple se limite généralement à deux ébauches foliaires.

4° Au sein de ce complexe gemmaire, les bourgeons n'ont pas la même valeur organogène et physiologique. Le plus volumineux a valeur de prompt-bourgeon tandis que les autres ont les potentialités de bourgeons latents.

5° Dans le cadre de la thermothérapie des viroses, lors des repiquages successifs, le mode opératoire est tel que seuls les prompts-bourgeons entrent en croissance et assurent le relais d'une génération à l'autre. C'est là, sans doute, une des raisons de l'absence de méristèmes inflorescentiels dans de telles cultures *in vitro*. La microchirurgie pourrait pallier cette absence.

Reçu pour publication en février 1979.

Summary

Vitis vinifera *buds grown* in vitro

Making use of plant histology, this study considers the organisation of the terminal bud and the foliar axil of *Vitis vinifera* plants grown *in vitro*, after having been treated by thermotherapy.

This study has made it possible for us to note following essentiel facts:

1. The rudimentary terminal bud includes a maximum of three rough foliar shapes.

2. The two or three axillary buds per axil which form a " gemmation complex " which exist.

3. Their morphological structure is generally limited to two rough foliar shapes.

4. Within this gemmation complex, the buds no longer have the same organogeneous and physiological value. The largest has the value of an anticipated bud, whereas the others have the potentialities of latent buds.

5. Within the framework of the thermotherapy of virus diseases, during the successive plantings out, the operational process is such, that only anticipated buds start to grow and act as a relay from one generation to another. This is undoubtedly one of the reasons for the absence of inflorescential meristems in such plantations *in vitro*. Microsurgery might provide a remedy for this lack.

Références bibliographiques

BUGNON F., BESSIS R., 1968. *Biologie de la Vigne*. Masson et Cie, édit. Paris, 160 p.

FALLOT J., 1954. Cultures aseptiques de tiges de Vigne prélevées juste avant et pendant le repos hivernal. *Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse*, **90**, 173-181.

FAVRE J. M., 1973. *Effets corrélatifs de facteurs internes et externes sur la rhizogenèse de la vigne cultivée* in vitro. Thèse Doctorat d'État, Paris Sud, 111 p.

FAVRE J. M., 1977. Premiers résultats concernant l'obtention *in vitro* de néoformations caulinaires chez la vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **27** (2), 151-169.

FAVRE J.-M., 1977. La rhizogenèse. *Ann. Univers. Abidjan*, 100 p.

GALZY R., 1961. Confirmation de la nature virale du Court-Noué de la Vigne par des essais de thermothérapie sur des cultures « *in vitro* ». *C. R. Acad. Sci.*, **253**, 706-708.

GALZY R., 1970. — *Recherches sur la croissance de la vigne saine et court-noué cultivée* in vitro. Thèse Doctorat d'État, Clermont-Ferrand, 58 p.

GALZY R., 1972. La culture *in vitro* des apex de *Vitis rupestris*. *C. R. Acad. Sci.*, **274**, 210-213.

HAWKER J. S. *et al.*, 1973. Callus and cell culture from grape berries. *Horstcience*, **8** (5), 398-399.

HIRABAYASHI T., KOZAKI I., AKIHAMA T., 1976. *In vitro* differentiation of shoots from anther callus in *Vitis*. *Hortscience*, **11** (5), 511-512.

KRUL W. R., WORLEY J. F., 1977. Formation of adventitious embryos in callus cultures of « Seyval ». *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **102** (3), 360-363.

MOREL G., 1944. Sur le développement de tissus de vigne cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.* **138**, 62.

MOREL G., 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. *Ann. Epiphyties*, **14**, 123-234.

MULLINS M. S., SMITH S. M., STREET H. E., 1976. Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grape vine (cv. « Cabernet-Sauvignon ») by apomixis *in vitro*. *J. exptl. Bot.*, **27**, 1022-1030.

MUR G., 1978. Obtention de vrilles et de baies chez *Vitis vinifera* en culture *in vitro*. *Prog. agri. viti.*, **21**, 609-611.

NOZERAN R., BANCILHON L., 1972. Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 167-185.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 325-335.

Un calibreur pour semences. Description. Analyse des résultats

A. SILVY

avec la collaboration technique de D. EVANNO

Département de Biologie, C.E.N. Cadarache Service de Radioagronomie, B.P. 1, 13115 Saint-Paul lez-Durance, France

Résumé

On décrit un calibreur à cylindres pour semences. Destiné à constituer des échantillons homogènes pour des essais agronomiques, il permet également de caractériser des lots de semences au moyen des distributions par classe de calibre et de la régression linéaire calibre - poids de 100 grains.

Introduction

De nombreuses études ont été faites à propos de l'influence de la grosseur des semences sur la vitesse de germination, les caractères précoces des plantules et même le rendement (CHAUSSAT, 1977; CHESNEAUX et HUTIN, 1976; CURRAH et SALTER, 1973; DATTA *et al.* 1972; HEYDECKER et COOLBEAR, 1977; WOOD *et al.* 1977). Elles donnent l'avantage tantôt aux grosses semences, tantôt aux petites, mais montrent toujours l'intérêt d'un tri pour sélectionner celles qui donneront les meilleurs plants. C'est le cas dans les études de radiobiologie sur l'Orge à deux rangs effectuées au Centre d'Études Nucléaires de Cadarache. On a l'habitude de faire un premier classement entre différents traitements en comparant la longueur moyenne de la première feuille des plantules. L'utilisation d'un tel critère nécessite une très bonne homogénéité des grains aussi bien pour leur origine génétique et culturale que pour leur grosseur, car la longueur de la première feuille augmente avec la grosseur des caryopses (SILVY et DEJARDIN, 1976). Devant la difficulté de résoudre ce problème avec une précision suffisante au moyen des appareils du commerce (tamis, trieurs sur alvéoles ou pneumatiques) nous avons construit un calibreur à cylindres. Nous avons calibré environ trente échantillons de Blé (16 variétés) et plus de cent échantillons d'Orge (20 variétés). Le calibrage a été également très bon avec d'autres semences : Colza, Hibiscus, Pétunia, Riz et

Soja. En raison de l'intérêt manifesté par des chercheurs d'autres disciplines nous présentons cet appareil, ainsi que les données qu'il permet d'obtenir pour caractériser un lot de semences. Ce calibreur est en service depuis plusieurs années et une description rapide en a déjà été donnée par le Pr CONSTANTIN (1976) qui avait pu voir le prototype au cours d'une visite de notre Station.

Description de l'appareil (fig. 1)

Le calibrage est effectué entre deux cylindres, d'inclinaison et d'écartement variables, de 110 cm de longueur et 4 cm de diamètre. Les cylindres, en acier inoxydable, ont été rectifiés. En fonctionnement, l'un est fixe tandis que l'autre

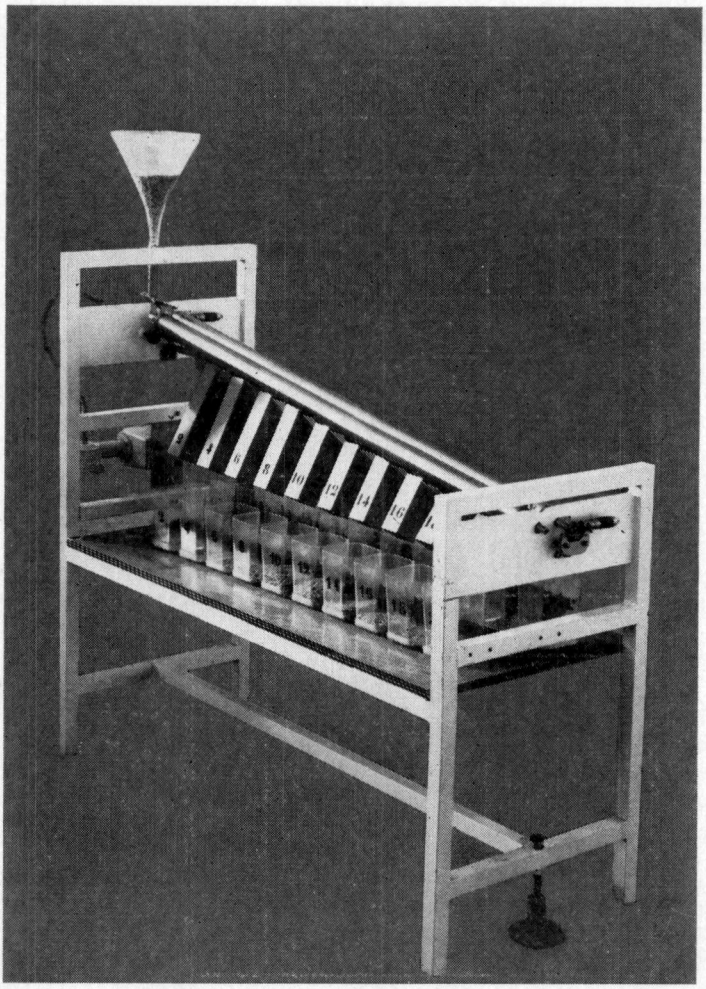


FIG. 1. — *Calibreur à cylindres.*

est animé d'un mouvement de rotation de sens refoulant par rapport au premier, par l'intermédiaire d'un moteur électrique avec variateur de vitesse et transmission flexible (150 à 200 t /mn), et d'un mouvement de va-et-vient grâce à une came (1 cm). La combinaison de ces deux mouvements permet la progression régulière des semences de long des cylindres. L'écartement en biais est ajusté à la grosseur des semences au moyen de vis micrométriques qui maintiennent les deux extrémités du cylindre fixe.

L'alimentation se fait au point le plus haut par un entonnoir et une gouttière. La variation continue de conicité de l'entonnoir ainsi que des réglages sur la hauteur de sa base au-dessus de la gouttière et sur l'inclinaison de cette dernière, joints aux vibrations produites par les mouvements du cylindre, permettent de régler le débit d'alimentation. Les semences se placent automatiquement l'une derrière l'autre, progressent le long des cylindres et sont recueillies en-dessous par l'intermédiaire de goulottes réparties de façon continue tous les 5 cm.

Connaissant les écarts aux extrémités des cylindres, chaque classe correspond à un intervalle de dimensions. La précision du calibrage dépend de la qualité de fabrication des cylindres et de la régularité de forme des semences qui les fait se placer toujours dans la même position. Les grains de Blé et d'Orge sont ainsi classés suivant l'épaisseur dorso-ventrale des caryopses, et les semences plus ou moins sphériques comme le colza, en fonction de leur plus petit diamètre.

Caractéristiques d'un échantillon

Dans les résultats présentés les classes de calibre sont désignées par leur numéro d'ordre. Elles ne correspondent pas aux mêmes réglages pour tous les essais. Le classement ainsi obtenu est suffisant pour certaines études, par exemple pour sélectionner les gros grains (1). Il permet aussi (fig. 2) de tracer un histogramme représentant la répartition en poids dans chaque classe de grosseur et une relation calibre — poids de 100 grains. La répartition en poids peut avoir un intérêt commercial. Par contre la relation calibre — poids de 100 grains et la distribution en nombre, déduite des deux premières données, ont une signification biologique et permettent de caractériser un échantillon.

Le calibrage étant fait suivant une dimension on s'attend à trouver une relation calibre — poids de 100 grains ayant la forme d'une courbe à concavité tournée vers le haut. C'est bien ce que l'on observe avec le Colza (fig. 3) et le Soja. Par contre avec l'Orge (fig. 2) et le Blé (fig. 4) ces relations peuvent être assimilées à des droites. Avec *Hibiscus cannabinus* nous avons même obtenu une courbe à concavité tournée vers le bas. A partir de ces données des ajustements, avec calcul des coefficients de régression, permettent de mieux définir les échantillons.

Les histogrammes de répartition, que ce soit en poids ou en nombre, ont en général une forme régulière, unimodale, dissymétrique avec report de la classe modale vers la droite (fig. 2, 3, 5, 6), rarement vers la gauche. Nous avons cependant observé quelques histogrammes pouvant être assimilés à des distributions normales : Riz « Delta » (fig. 7), Orge « Bérac » provenant du département de Côte d'Or (fig. 6). Quand la relation calibre — poids de 100 grains est linéaire les cali-

(1) On utilise le mot « grain » pour « semence », la plupart des résultats présentés ayant été obtenus avec de l'Orge et du Blé.

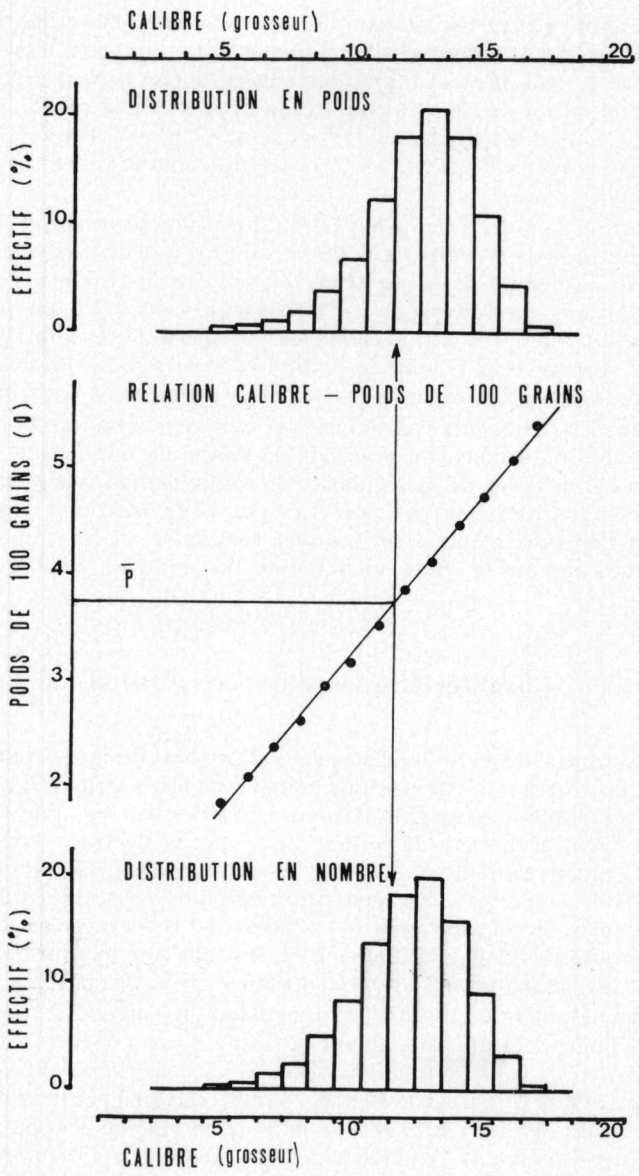


FIG. 2. — *Calibrage sur Orge « Piroline » (Échantillon de 500 g).*
Distributions en poids et en nombre par classe de grosseur, relation calibre - poids de 100 grains.

bres sont équivalents à des classes de poids. Quand elle ne l'est pas, la transformation représentée sur la figure 3 permet de tracer les histogrammes en fonction du poids de 100 grains. Pour un échantillon de Colza (I.N.R.A., Rennes) nous avons obtenu ainsi une distribution gaussienne alors que la distribution en classes de calibre est dissymétrique (fig. 3). Sur un lot commercial d'Orge à deux rangs,

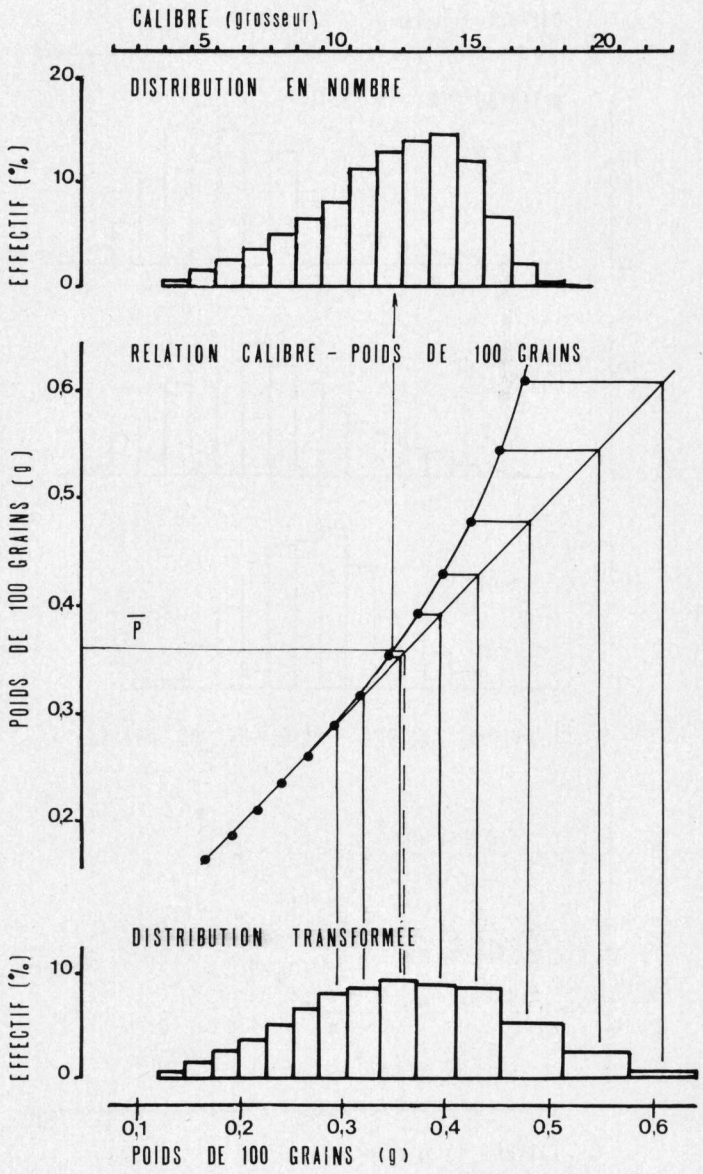


FIG. 3. — *Calibrage sur Colza* (*Échantillon de 50 g*). Distribution en nombre par classe de grosseur, relation calibre - poids de 100 grains. La distribution transformée par rapport au poids de 100 grains est gaussienne.

var. « Rika », nous avions obtenu exceptionnellement une distribution bimodale mais nous avons pu vérifier qu'il s'agissait d'une hétérogénéité provenant du mélange de deux échantillons. Par contre avec certaines semences, comme le Blé, les distributions sont polymodales (fig. 4). En fait un épi de Blé a une structure beaucoup plus complexe qu'un épi d'Orge à deux rangs. Dans un épillet les poids élémentaires

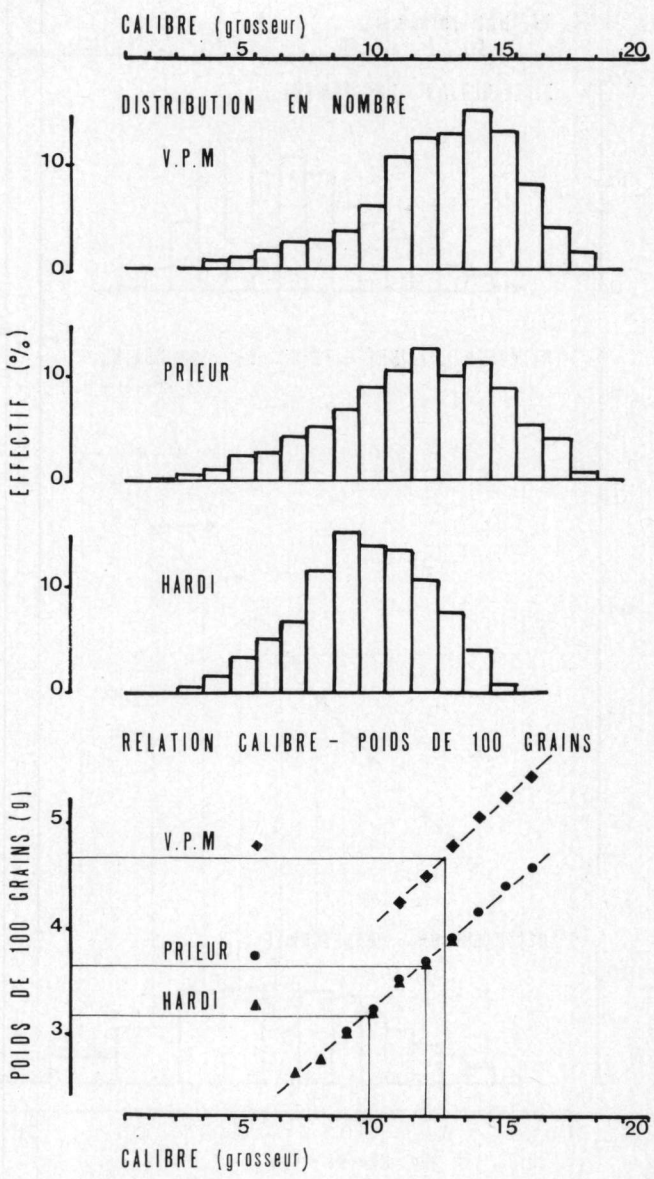


FIG. 4. — *Calibrage sur 3 variétés de Blé* : « *V.P.M.* », « *Prieur* » *et* « *Hardi* » (*Échantillons de 50 g*). Les distributions sont polymodales « V.P.M. » et « Prieur » ont des distributions presque identiques. « Prieur » et « Hardi » ont même relation calibre-poids de 100 grains.

des différents grains se classent dans l'ordre 2e grain > 1er grain > 3e grain (CHAUSSAT, 1977). Une étude portant sur 400 épillets (CHAUSSAT, communication personnelle) a montré que les distributions en classes de poids sont différentes suivant le numéro du grain dans l'épillet. La distribution résultante reproduit exactement l'allure polymodale de la distribution obtenue par calibrage. Dans ces conditions

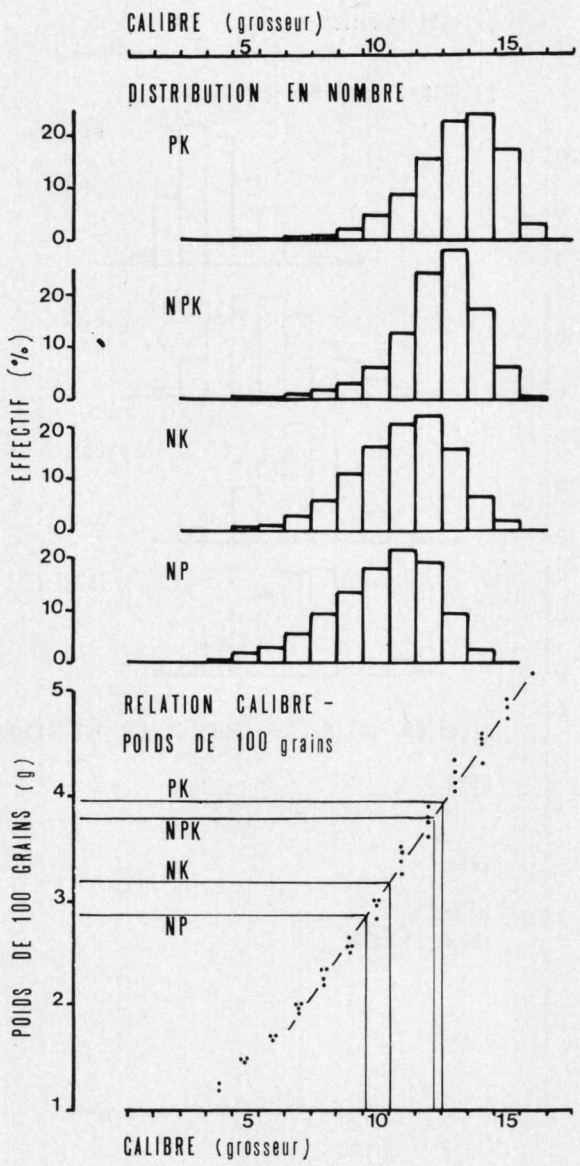


FIG. 5. — *Calibrage sur Blé « Champlein » (Échantillons de 1 kg) provenant des traitements PK, NPK, NK, NP de l'expérience* DÉHÉRAIN (1976). Les distributions en nombre par classe de grosseur sont différentes. La relation calibre-poids de 100 grains est la même.

le poids moyen de 100 grains est en réalité bien peu représentatif d'une distribution par classes de calibre ou de poids. Sa signification est très différente suivant qu'il coïncide ou non avec la classe modale et il n'est pas possible d'effectuer des calculs de comparaison de moyennes entre plusieurs échantillons qui ont des distributions différentes.

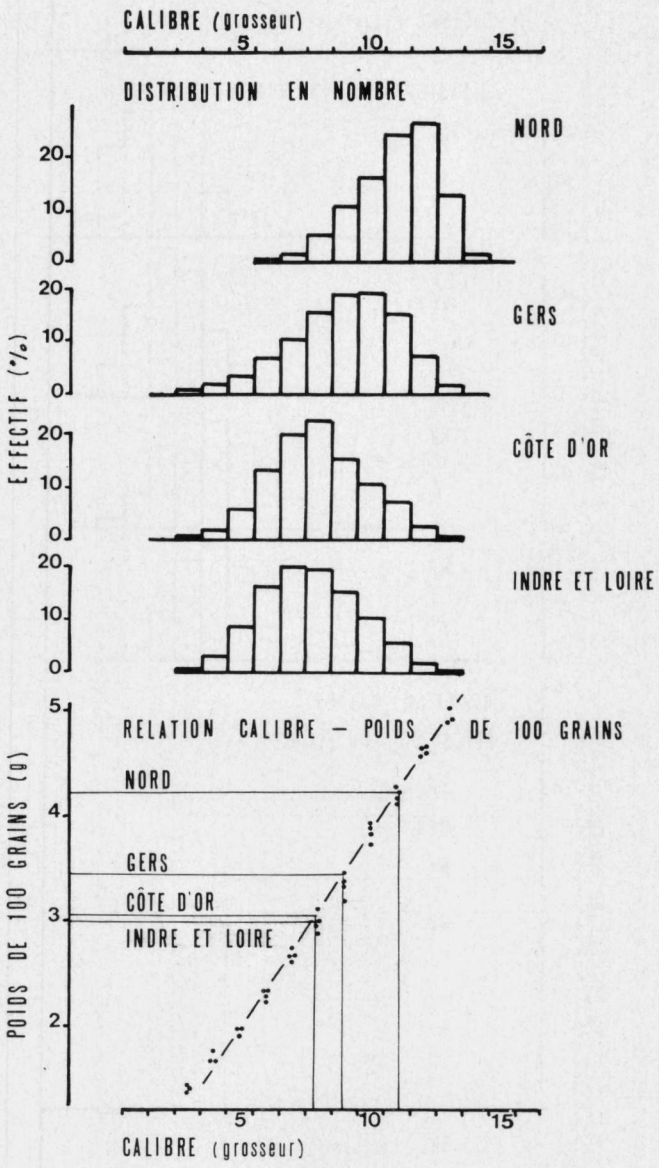


FIG. 6. — *Calibrage sur Orge « Bérac » (Échantillons de 1 kg) provenant de 4 départements.* Les distributions en nombre par classe de grosseur montrent des différences. La relation calibre-poids de 100 grains est la même.

Afin d'apprécier la signification pratique de ces résultats (distributions et relation calibre — poids de 100 grains) on a comparé des lots de semences dans lesquels l'un des résultats est identique. Comme il s'agit ici d'une étude préliminaire de présentation de l'appareil les comparaisons ont été faites uniquement visuellement.

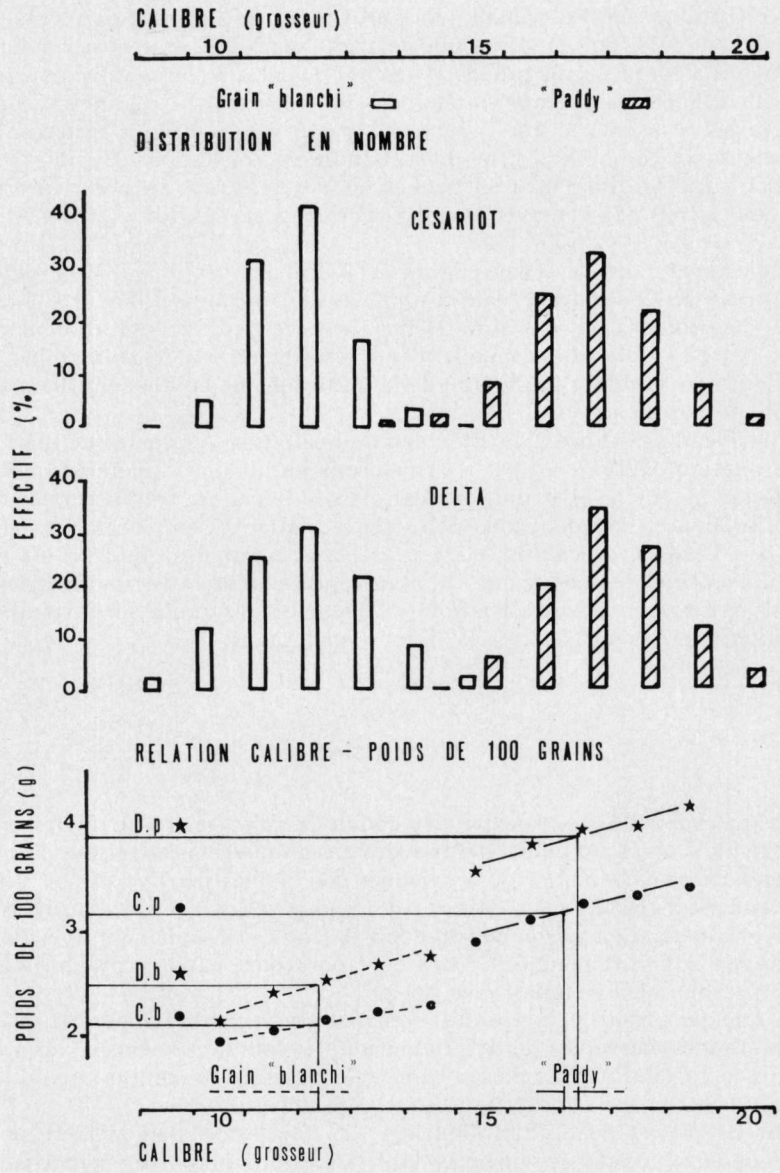


FIG. 7. — *Calibrage sur Riz « Césariot » et son mutant à grain long « Delta » sous formes « paddy » et « blanchi » (Échantillons de 50 g).* Les distributions en nombre par classe de grosseur sont les mêmes. Les relations calibre-poids de 100 grains sont différentes.

On trouve même relation mais des distributions différentes pour les trois grains de l'épillet de Blé ou pour les épis maîtres et ceux des talles secondaires de l'Orge à deux rangs. Les brins maîtres portent des grains plus gros que les talles secondaires. Cette différence est vraisemblablement responsable du classement par poids moyens de 100 grains observé dans l'expérience DÉHÉRAIN (INA Grignon 1976)

sur des échantillons de Blé « Champlein » provenant de quatre traitements : PK > NPK > NK > NP (fig. 5). Bien que le traitement PK donne le rendement le plus faible, il a les plus gros grains. *A fortiori* des grains d'une même variété provenant de différentes régions donneront des répartitions distinctes comme le montre la figure 6 pour l'Orge « Bérac » à partir d'échantillons récoltés dans les départements du Nord, Gers, Côte-d'Or et Indre-et-Loire (UNCAC). Plus rarement avec deux variétés différentes on peut avoir des résultats du même ordre. C'est ce que nous avons observé avec les Blés « Prieur » et « Hardi » (I.N.R.A., Dijon, fig. 4).

Inversement, sur la même figure 4, « Prieur » et « V.P.M. » ont même distribution mais des relations calibre — poids de 100 grains différentes. La variété de Riz « Césariot » et son mutant « Delta », sous les trois présentations du grain : paddy — cargo — blanchi, donne le même résultat (I.N.R.A. Montpellier, fig. 7). On met ainsi en évidence l'influence de la mutation sur la longueur du grain sans variation de son épaisseur.

Dans le cas de l'Orge et du Blé, bien qu'une étude systématique n'ait pas été faite, la relation calibre — poids de 100 grains paraît une caractéristique surtout variétale tandis que les distributions par classes de calibre traduisent plus spécialement l'influence des conditions culturales. Toutefois l'emplacement des distributions sur l'échelle de calibre, c'est-à-dire la grosseur des grains, n'est pas forcément un critère de rendement. L'interprétation d'une distribution présuppose une analyse des facteurs de variations de grosseur des grains, en particulier entre et à l'intérieur des inflorescences d'un même plant.

Conclusion

Cet appareil utilise le principe bien connu du calibrage par cylindres. Son originalité réside dans la simplicité des moyens mécaniques mis en œuvre. Par rapport aux autres trieurs alvéolaires ou à colonnes disponibles pour ce travail il a l'intérêt de donner un classement continu en un seul passage. Ce n'est toutefois pas un appareil commercial en raison de son débit de 200 g /1h seulement avec de l'Orge. Mais cela est suffisant pour des essais en laboratoire, car les caractéristiques de lots d'Orge sont bien définies avec 50 g.

Les quelques résultats présentés montrent que le calibrage permet de compléter les méthodes classiques de détermination des lots de semences, aussi bien du point de vue variétal par la relation calibre — poids de 100 grains que du point de vue qualitatif par les distributions en classes de grosseur.

Pour ce qui est de l'échantillonnage : si une bonne homogénéité pondérale est obtenue en prenant des semences dans la classe modale, par contre il n'en est sans doute rien pour l'homogénéité physiologique. Nous avons vu pour l'Orge et le Blé que les proportions de grains provenant des épis maîtres et des épis secondaires, ou des différents niveaux des épillets, varient suivant les classes de calibre. Cet effet de position est aussi important que l'effet de poids vis-à-vis de la prédétermination physiologique étudiée par CHAUSSAT et LE DEUNFF (1974) par rapport à la vitesse de germination. La meilleure homogénéité sera obtenue en sélectionnant les plus grosses semences.

Reçu pour publication en mars 1979.

Summary

A grader for seeds
Description — Analysis of results

A seed grader with variably spaced cylinders is described. This device, initially designed to constitute homogeneous samples for agronomical trials also allows characterizing seed batches by the weight or number histograms in relation to grading class, and by the linear regression of the seed size to the weight of one hundred seeds. The results based on histograms depend on environmental changes, whereas those based on linear regression reflect primarly varietal characteristics.

Références bibliographiques

CHAUSSAT R., 1977. Comparaison des poids et des propriétés germinatives des semences de l'épillet de blé (*Triticum aestivum* L.) à celles de l'épillet d'*Aegilops ovata* L. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **284**, 1983-1986.

CHAUSSAT R., LE DEUNFF Y., 1974. La prédétermination physiologique des semences, in *Germination des Semences*, CHAUSSAT R. et LE DEUNFF (Éd.), Gauthier Villars, Paris, 219-232.

CHESNEAUX M. T., HUTIN C., 1976. Action du Chlortoluron sur quelques variétés de blé tendre au stade plantule, influence de la grosseur des grains. *C. R. Acad. Agric.*, **62**, 7, 454-463.

CURRAH I. E., SALTER P. J., 1973. Some combined effects of size grading and « hardening » seed on the establishment, growth and yield of four varieties of carrots. *Ann. Bot.*, **37**, 709-719.

DATTA S. C., GUTTERMAN Y., EVENARI M., 1972. The influence of the origin of the mother plant on yield and germination of their caryopses in *Aegilops ovata*. *Planta*, **105**, 155-164.

HEYDECKER W., COOLBEAR P., 1977. Seed treatments for improved performance-survey and attempted prognosis. *Seed Sci. Technol.*, **5**, 353-425.

MORGAN A. H., CONSTANTIN M. J., 1976. A laboratory seed separator grader. *Trans. ASAE*, 461-462.

SILVY A., DEJARDIN J., 1976. Utilisation d'une échelle fonctionnelle empirique pour l'analyse de distributions polymodales. Application à un problème de radiobiologie. *Biométrie-Praximétrie*, **16** (1-2), 26-36.

WOOD D. W., LONGDEN P. C., SCOOT R. K., 1977. Seed size variation: its extent, source and significance in field crops. *Seed Sci. Technol.*, **5**, 337-352.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 337-347.

Sélection du Ray-grass d'Italie pour la résistance à la Rouille couronnée en conditions artificielles (*)

P. MANSAT et Michèle BETIN

Station d'Amélioration des Plantes Fourragères, I.N.R.A.
86600 Lusignan

Résumé

La Rouille couronnée (*Puccinia coronata*) diminue le rendement des cultures du Ray-grass d'Italie (*Lolium multiflorum* sbps *italicum* et *westerwoldicum*) et surtout limite sa consommation par les animaux. Une accélération de la sélection a été tentée en utilisant conjointement une technique d'infection artificielle et une de mise à fleur accélérée, en serre et chambre de culture. Une sélection massale a été effectuée pendant 2 ou 3 générations sur 14 populations tétraploïdes et diploïdes, à raison de 2 cycles par an. Une comparaison a été faite entre générations et populations au champ et en serre. La facilité de sélection varie selon les populations, il en est de même du gain de résistance qui atteint de 0 à 2 points (échelle de notation 0-5) et de la forme des évolutions. Ce mode de travail s'avère efficace.

La rouille couronnée (*Puccinia coronata* Cda) est un parasite grave du Ray-grass d'Italie (*Lolium multiflorum* sbps *italicum* et *westerwoldicum*). Les attaques se produisent en été-automne et plus rarement en mai-juin : elles nécessitent une humidité importante, une chaleur et une luminosité suffisantes.

L'action de la rouille est néfaste :

— sur le rendement instantané d'une pousse attaquée, et sur les rendements totaux. GONDRAN (1970*a*), en protégeant un témoin par de l'oxycarboxine, a chiffré la perte de matière sèche sur la 2e pousse d'un ray-grass semé au printemps à 40-50 p. 100 pour « Lemtal » cultivar très sensible, et à 20-30 p. 100 pour « Tétrone » moyennement sensible. Sur le total des 3 coupes de l'année d'installation, ces pertes deviennent 20 p. 100 pour « Lemtal » et 10 p. 100 pour « Tétrone » .En 14 mois de culture elles sont de 8 p. 100 et 3 p. 100;

— sur la pérennité des prairies, A. J. HEARD et E. T. ROBERTS (1975) ont

(*) Cette communication a été présentée en anglais au Congrès EUCARPIA Septembre 1978.
Référence : Proceedings EUCARPIA Fodder Crops Section meeting 1978, IHAR Radzikow Poland.
Elle a également fait l'objet d'un exposé en français aux journées de l'Association des Sélectionneurs français à Changins (Suisse) (septembre 1978).

observé des dégradations du couvert végétal par mort des plantes, dans le sud-est de l'Angleterre.

Mais l'effet peut-être le plus important est la diminution de la valeur alimentaire :

— nous avons observé des cas de refus complet de consommation ou des gaspillages importants par des vaches. HEARD (1975) souligne que des prairies atteintes peuvent être inutilisées par des moutons;

— le pourcentage de débris foliaires est augmenté : 8 p. 100 lors d'une attaque assez forte (note 3 dans l'échelle 0-5) sur « Tétrone » et « Sabalan » en juillet 1978. Cela entraîne classiquement une diminution de consommation par les animaux;

— ISAWA et NISHIHARA (1975) ont signalé une diminution de la digestibilité *in vitro* de la matière organique, de la teneur en protéines et en sucres solubles. GONDRAN (1970*a*) a observé une baisse de digestibilité mais pas de la teneur en protéines.

La sensibilité à la Rouille couronnée est en fait le principal facteur limitant de la valeur alimentaire du Ray-grass d'Italie, du moins en climat océanique tempéré.

Dans l'ouest de la France, les attaques sont fréquentes : au cours des dix dernières années dans les 3 stations I.N.R.A. de l'ouest, dans les études pour le Catalogue officiel, le cultivar « Tiara » fut noté supérieur ou égal à 3 sur 5, 14 fois sur 29 notations en pépinière et 15 fois sur 26 en parcelles d'essais.

Les efforts de sélection ont augmenté depuis une douzaine d'années. Plus que dans des articles, cela apparaît dans des rapports de stations de certains états des U.S.A., en Nouvelle-Zélande et en Europe. Des cultivars « résistants » sont proposés en divers pays du globe. Les infections naturelles ont été régularisées et renforcées par l'emploi de cultivars très sensibles répartis dans les pépinières pour assurer la contamination. Des infections artificielles en champ (BENNETT, 1968) ont été utilisées. Des techniques d'infections artificielles en chambre de culture et, ou en serre ont été mises au point (GONDRAN, 1967 et 1970*b*, WILKINS, 1970) mais ne sont que modérément employées en pratique semble-t-il.

Les progrès en Europe sont visibles : « Tiara », bon en 1960, a été dépassé successivement par « Tétrone » et par ses dérivés, puis par « Maris Ledger » et « Sabalan » puis par « Adret »...

Il nous a paru important d'accélérer la sélection pour la résistance.

Nous avons tenté d'utiliser conjointement les techniques de développement du Ray-grass et d'infection par la Rouille en conditions artificielles pour améliorer des populations. Une sélection massale a été effectuée pendant 3 générations pour certaines populations, deux pour d'autres, en chambre de culture et serre. Les sensibilités au départ et à chaque génération ont été comparées dans un essai final, en serre et en champ.

Les résultats de cette étude réalisée de 1973 à 1977 sont rapportés dans cette communication.

Matériel et méthodes

1. — *La sélection*

— Les populations choisies au départ étaient des cultivars moyennement ou peu sensibles, sauf « Barwoldi » et « Méritra » plus sensibles. Les diploïdes étaient : « Barwoldi », « Lutil », « Maïa », « Adret », « Fat », « Michigan », « Tiara ». Les tétra-

ploïdes étaient : « Avance », « Dura », « Maris Ledger », « Méritra », « Romo », « Sabalan », « Tétrone ».

— Toutes les populations diploïdes ont subi 3 générations de sélection massale. Les tétraploïdes, sauf « Maris Ledger », 2 seulement (pour des raisons techniques indépendantes de la structure génétique). 200 plantes pour chaque population étaient utilisées à chaque génération. Les plantes sélectionnées étaient mises en fécondation libre sous cage à isolement, par origine.

— La pression de sélection était forte : n'étaient retenues que les plantes sans symptômes, ou les plantes notées 1 lorsqu'il n'y avait pas de plantes notées 0 (échelle 0-5). Les autres étaient éliminées sans notation.

— La technique d'infection artificielle sur jeunes plantes est celle décrite par GONDRAN, 1967 et 1970*b*), c'est-à-dire en pratique :

- récolte des urédospores par aspirateur et conservation au réfrigérateur à 6-7 °C en atmosphère sèche, après contrôle de la germination,
- préparation de l'inoculum : mélange de talc et de spores à 1 p. 100 en poids de spores capables de germer, la veille de l'inoculation,
- arrosage des caissettes contenant les plantes à 6-7 talles et 20 cm de haut environ, pulvérisation d'eau sur les feuilles, poudrage avec l'inoculum, nouvelle pulvérisation d'eau,
- pose de sacs plastiques transparents : ils restent en place 4 jours,
- maintien en chambre de culture à 18-20 °C et 16 heures d'éclairement à 15 000 lux (tubes 215 watt cool-white + lampes à incandescence 10 watt) pendant les 4 jours,
- transfert en serre chauffée et éclairée si nécessaire, le 5^{e} jour,
- notation 16 à 18 jours après l'inoculation.

— Les urédospores étaient récoltées en champ pendant l'été, en période sèche. Elles étaient multipliées 1 fois au plus en serre sur « Motterwitzer » cultivar très sensible, ou récoltées directement sur l'ensemble des génotypes en essai.

— La mise à fleur des plantes a été effectuée selon les données de BLONDON (1964), c'est-à-dire en pratique :

- semis en caissettes en serre, à densité faible et régularisation de celle-ci après la levée par élimination de plantes,
- vernalisation en chambre de culture à partir de 3-4 feuilles : 7-8°, 8 h d'éclairement à 12-15 000 lux, 2 mois,
- montaison et grenaison en serre : température minimum de 18-20 °C, éclairage minimum de 16 h, et appoint d'intensité lumineuse de 5 à 6 000 lux par temps couvert et sous la cage à isolement.

L'enchaînement des opérations était le suivant : semis en caissettes à densité faible, levée en serre, vernalisation pendant 2 mois, infection artificielle en chambre de culture (4 jours), croissance du champignon sur les plantes en serre, notation et tri des plantes, mise à fleur des plantes sélectionnées, fécondation sous cage puis maturation dans la même serre. Un cycle durait en moyenne 6 mois.

2. — *L'essai comparatif final*

L'essai comparatif fiinal a porté sur 9 des 14 populations seulement. La sensibilité aux différentes générations (Go, G1, G2, G3) a été mesurée :

— d'une part en chambre de culture et serre, par inoculation artificielle sur

200 plantes par génotype (c'est-à-dire une population à une génération donnée),

— d'autre part en champ sous infection naturelle dans un essai implanté en 1976 et un autre en 1977, sur 100 plantes par génotype.

En 1976, les diploïdes étaient séparés des tétraploïdes. Il a été nécessaire d'arroser. Une notation a été effectuée le 3 septembre. En 1977 le même dispositif comprenait l'ensemble des génotypes, 1 notation a été faite le 26 août.

L'échelle de notation était : 0 = pas de rouille; 1 = quelques pustules par plante; 2 = quelques pustules sur quelques feuilles; 3 = moins de la moitié de la plante couverte par des pustules; 4 = plus de la moitié et moins des 3/4 de la plante sont couverts par des pustules; 5 = les 3/4 de la plante sont couverts par des pustules.

Résultats et discussion

1. — *Facilité de sélection*

Sur les 14 populations, 5 ont été éliminées au cours de l'étude parce qu'il n'a pas été possible de trouver suffisamment de plantes sans symptômes ou de note 1, avec les effectifs utilisés (200 plantes) et l'intensité de l'infection artificielle. Pour d'autres, il a fallu prendre souvent des plantes 1 car les types 0 étaient rares,

TABLEAU I

Taux de sélection dans chaque population à chaque génération, exprimé en % de plantes retenues, notées 0 ou notées 0 et 1 (*)

Selection coefficient in each population at each generation: % of selected plants, scored 0 or scored 0 and 1 (*)

	Populations diploïdes				Populations tétraploïdes				
	« Lutil »	« Michigan »	« Fat »	« Adret »	« Maris L »	« Romo »	« Sabalan »	« Tétrone »	« Méritra »
G_0	11,1	11,1	4,7	11,7	6,5	8,9	5,8	5,9	4,2 (*)
G_1	3,9	24,2	4,6	21,4	7,2	13,0 (*)	23,5 (*)	6,3 (*)	4,3 (*)
G_2	58,7	62,3	20,6	41,8	13,3				

même dans les G1 notamment pour certaines populations tétraploïdes. Le tableau 1 indique les taux de sélection.

Dans la pratique d'une sélection il faut des effectifs d'autant plus importants que la population de départ contient moins de plantes sans ou avec peu de symptômes.

2. — *Efficacité de la sélection selon les populations, d'après l'essai final en serre avec infection artificielle*

a. — *Évolution des notes moyennes*

— Valeurs absolues (tabl. 2).
— Valeurs relatives en p. 100 (tabl. 3).

(« Méritra » régulièrement plus sensible, n'a pas son équivalent chez les diploïdes, aussi ne l'avons nous pas inclus dans la moyenne de groupe. En G_0, les notes de « Romo » et surtout « Tétrone » sont plus basses qu'à l'accoutumé).

Dans l'échantillon restreint de populations étudiées, sans que l'interprétation

TABLEAU 2

Évolution des notes moyennes en valeurs absolues pour chaque population initiale selon les générations

Evolution of the mean scores in absolute values for each population according to generations

	Populations diploïdes				Populations tétraploïdes				
	« Lutil »	« Michigan »	« Fat »	« Adret »	« Maris L »	« Romo »	« Sabalan »	« Tétrone »	« Méritra »
G_0	3,1	3,0	3,1	3,0	3,4	2,6	3,3	2,6	3,6
G_1	2,2	1,6	2,4	2,1	2,7	pas assez de graines pour le test			
G_2	1,7	0,8	1,7	1,3	2,1	0,7	2,0	0,8	3,3
G_3	1,1	0,3	0,4	0,6	0,7				

TABLEAU 3

Évolution des moyennes en valeurs relatives (%) pour chaque population initiale selon les générations

Evolution of the means in relative values (%) for each population according to generations

	Populations diploïdes				Populations tétraploïdes				
	« Lutil »	« Michigan »	« Fat »	« Adret »	« Maris L »	« Romo »	« Sabalan »	« Tétrone »	« Méritra »
G_0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
G_1	71,0	53,3	77,4	70,0	79,4				
G_2	54,8	26,7	54,8	43,3	61,8	26,9	60,6	30,8	91,7
		44,9				45,0			
G_3	35,5	10,0	12,9	20,0	20,6				

TABLEAU 4

Distribution de fréquences des notes (%) pour chaque population initiale selon les générations

Frequency distribution of the scores (%) for each population according to generations

		G_0						G_2						G_3					
		0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Diploïdes	« Lutil »	0	7,4	20,9	36,2	28,2	7,4	14,6	33,5	24,7	19,6	7,6	0	41,4	27,6	16,1	12,6	2,3	0
	« Michigan »	0,5	8,7	17,5	41,0	24,6	7,7	55,3	25,1	10,1	7,8	1,7	0	74,9	21,3	2,2	1,6	0	0
	« Fat »	0,6	4,6	20,1	37,9	31,6	5,2	21,5	23,7	29,6	21,5	3,8	0	70,6	17,0	9,3	3,1	0	0
	« Adret »	0	11,2	23,5	26,8	30,7	7,8	31,6	33,3	19,3	11,1	4,7	0	63,3	22,9	7,8	4,8	1,2	0
Tétraploïdes	« Maris L. »	0,6	4,0	13,1	34,1	38,1	10,2	9,6	24,7	25,3	25,3	12,4	2,8	48,5	37,0	12,7	1,8	0	0
	« Romo »	1,2	11,0	35,5	29,7	22,7	0	41,5	50,9	6,4	1,2	0	0						
	« Sabalan »	1,2	4,8	15,1	33,7	35,5	9,6	9,0	22,7	36,2	23,9	8,6	0,6						
	« Tétrone »	2,5	7,6	36,1	35,4	16,5	1,9	39,9	44,8	11,7	3,1	0,6	0						
	« Méritra »	0	0	9,2	33,9	42,0	14,9	0,6	4,2	18,0	31,7	37,7	7,8						

statistique soit nécessaire il apparaît nettement un effet génotype, un effet génération et une évolution (interaction génotype × génération) différente selon les génotypes. L'analyse factorielle le confirme.

Le gain réalisé est comparable entre les tétraploïdes et les diploïdes (bien qu'il ait été nécessaire d'exercer un tri un peu moins sévère au départ chez les tétraploïdes utilisés). Le cas de « Méritra » est particulier : l'efficacité de la sélection avec les effectifs traités est faible en 2 générations.

b. — *Évolution des distributions de fréquences* (exprimées en % — tabl. 4).

Parmi les diploïdes les distributions en G_0 ne sont pas significativement différentes, selon le test χ_2. Par contre elles le sont en G_2, et de G_2 en G_3 il y a modification significative pour chacune, ou à la limite de signification pour « Michigan » (en fait limite d'action du test χ_2). Il y a donc des évolutions particulières.

Parmi les tétraploïdes utilisés, en G_0 il y a 2 groupes significativement différents entre eux mais pas en leur sein : « Romo » et « Tétrone » d'une part, « Sabalan » et « Maris Ledger » de l'autre. En G_2 les mêmes différences et similitudes se retrouvent. L'évolution dans « Meritra » est lente et non significative (selon χ^2) mais l'apparition de types 0 et 1 ouvre des espoirs. L'étalement des notes et la vitesse de transformation chez les tétraploïdes ne sont pas systématiquement différents de ceux des diploïdes, cela dépend des équipements génétiques de chaque cultivar.

L'évolution des types 0 est progressive pour toutes les variétés mais avec cependant des inflexions marquées pour « Fat » et « Maris Ledger » de G_2 en G_3 (pour « Michigan » en G_1 la fréquence est de 24,1 donc intermédiaire, pour « Romo » et « Tétrone » nous ne le savons pas).

Ces évolutions progressives, tant des moyennes que des distributions, et ce malgré un tri sévère, laissent penser que la résistance est due pour l'essentiel à un ensemble de facteurs additifs nombreux. Cela confirme nos observations réalisées en sélection généalogique avec autofécondation. Cela va dans le sens des conclusions de divers auteurs : GIBBS 1966, WILKINS (1965*a*, 1975*b*) (et Mc VEIGH 1975 sur Ray-grass anglais). WILKINS et Mc VEIGH observent dans quelques cas l'action de facteurs majeurs dominants (plus ou moins complexes il est vrai chez WILKINS); ici les modifications de distributions ne sont ni assez précoces ni assez brusques pour suggérer de telles actions.

3. — *Valeur des résultats en champ*

Les corrélations (de rang ou entre notes) entre les notes en serre et en champ en 1976 et 1977, aux différentes générations, ne sont pas satisfaisantes (tabl. 5). Mais le nombre de degrés de liberté est faible (8 populations) et cette difficulté est aggravée dans l'essai champ 1976 par la subdivision en 2 groupes. GONDRAN (1970*b*) avait obtenu des corrélations nombreuses et très significatives avec un matériel plus vaste à l'état entièrement végétatif. « Lutil » en particulier, riche en tiges en champ, moins feuillu, paraît moins attaqué en champ qu'en serre.

Néanmoins la comparaison des évolutions des populations est très encourageante tant en 76 qu'en 77. Sur le tableau 6 et la figure 2 sont portées les moyennes des 2 notations obtenues en champ, la figure 1 correspond aux résultats en serre.

TABLEAU 5

Corrélations entre les notes obtenues en serre et en champ à chaque génération toutes populations confondues

Correlations between notations in artificial conditions and in field, at each generation

	Essai 76	Essai 77	Essai 76 + 77
G_0	0,40	0,42	0,40
G_1	0,63	0,50	0,61
G_2	0,91* S	0,73	0,84* S
G_3	— 0,13	— 0,05	— 0,06

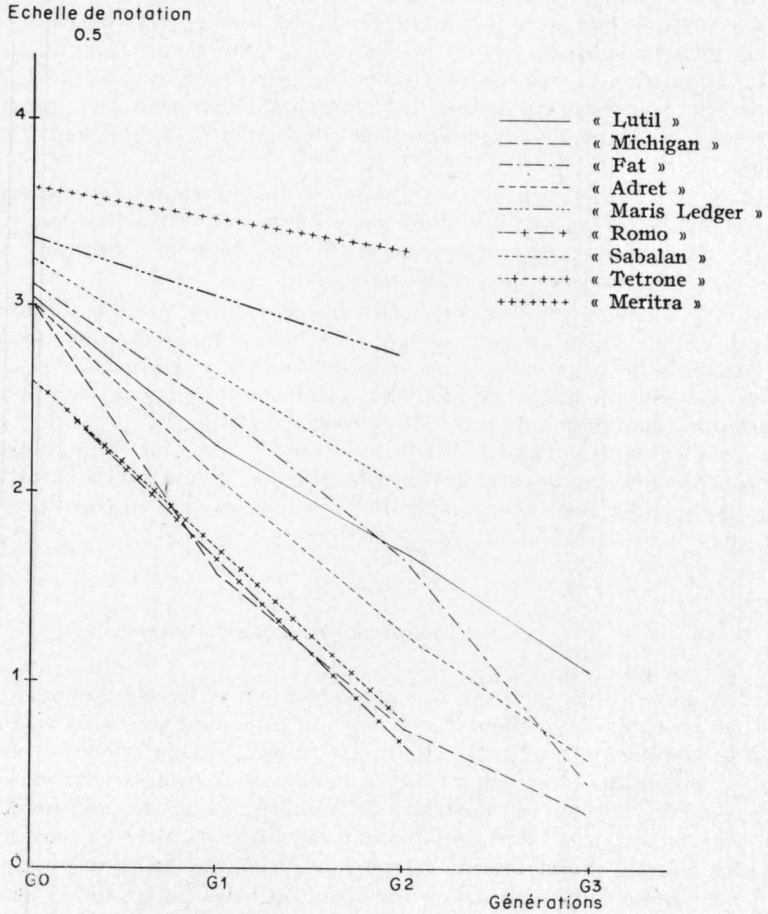


FIG. 1. — *Évolution des notes, test final de 1976 en serre. Scores obtained in final glasshouse trial in 1976. Evolution.*

TABLEAU 6

Valeurs absolues des moyennes des 2 notations en champ
Absolute values of 2 scoring means in the field

	Populations diploïdes				Populations tétraploïdes				
	« Lutil »	« Michigan »	« Fat »	« Adret »	« Maris L »	« Romo »	« Sabalan »	« Tétrone »	« Méritra »
G_0	1,6	2,2	2,4	2,0	2,7	2,6	3,0	3,0	4,1
G_1	1,0	1,4	2,2	1,7	pas assez de graines				
G_2	0,6	0,7	1,8	1,2	2,2	1,4	2,2	1,4	4,0
G_3	0,4	0,4	0,5	0,9	pas assez de graines				

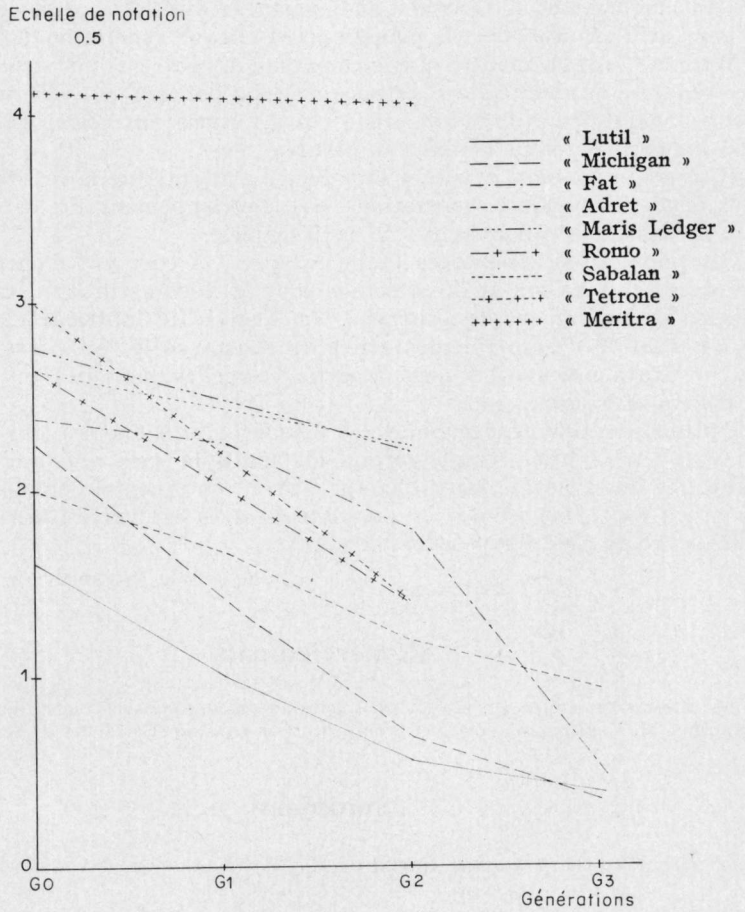


FIG. 2. — *Évolution des notes moyennes, tests de 1976 et 1977 en champ.*
Mean of the scores obtained in final trials in the fields during 1976 and 1977. Evolution.

Le résultat final est encore très démonstratif. Dans les évolutions, il y a cependant un tassement général entre cultivars et des pentes moins fortes.

« Lutil » se situe à un niveau différent à cause de ses tiges. La modification de niveau de « Tétrone » et « Romo » est moins explicable.

Ces différences entre les résultats en serre et en champs sont certainement plus attribuables à l'expression plus complète des caractéristiques de vigueur repousse, présence de tiges... et à l'hétérogénéité plus grande des attaques, qu'à une différence de virulence du parasite. Les précautions prises dans la récolte des urédospores utilisées en serre sont en effet suffisantes pour écarter l'idée d'une différence de race.

Conclusions

Une sélection massale accélérée en conditions totalement artificielles est efficace pour améliorer des populations. La vitesse, donc le résultat en un temps donné, dépend du niveau initial, peu de la structure di- ou tétraploïde, beaucoup de l'équipement génétique inconnu au départ. Les difficultés peuvent être compensées par l'utilisation d'effectifs plus grands à chaque génération de tri.

WILKINS (1975*a*) montre que le champignon peut, par une évolution de virulence, tendre à surmonter la résistance de type polygénique observée. Il est certainement capital d'utiliser des urédospores formées sur divers génotypes et en divers milieux, notamment dans la nature.

Il serait intéressant de situer le pallier d'évolution de la résistance en continuant pendant quelques générations. Le développement de la consanguinité risque de biaiser les expressions de la résistance.

Ces populations améliorées étant acquises, il convient d'entreprendre une phase de recombinaison et de sélection pour les autres caractéristiques sans remettre en cause le niveau de résistance. Une analyse de l'aptitude à la combinaison avec observation des complémentarités de résistance est en cours pour décider de la constitution de synthétiques, à partir desquelles une sélection de type récurrent pourra être entreprise.

Par une sélection généalogique avec autofécondation nous avons créé en 10 ans (1961-1971) un hybride simple tétraploïde multiplié très résistant TF (noté 1,1 en moyenne des 2 notations en champ 1976 + 1977) utilisé comme géniteur. En 3 ans (1973-1975) une gamme de populations aussi et plus résistantes que lui ont été créées. Le gain de temps est intéressant.

Reçu pour publication en mars 1979.

Remerciements

Les auteurs remercient J. GONDRAN d'avoir fourni des conseils techniques, ainsi que H. LATERROT et M. TROTTET d'avoir bien voulu proposer des améliorations au texte en français.

Summary

Breeding rust resistant italian ray-grass by use of artificial conditions

Puccinia coronata is a serious Italian ryegrass disease in the west of France: the animal intake and yield are reduced. The purpose of this study is to speed up breeding by means of infections and flowering under artificial conditions.

The breeding cycle lasts over 6 months: vernalization over 2 months (BLONDON, 1964), artificial inoculation in growth room (GONDRAN, 1970), assessment of infection and plants sorting 15 days later, transplanting of plants free of symptoms into heated and lighted greenhouses, flowering and seeding in isolation boxes. The inoculum is harvested in the fields or produced in greenhouse on the leaves of various cultivars. Three successive cycles were carried out on 14 populations (7 diploids and 7 tetraploids) of alternative or non alternative type. A final comparison between various generations was performed in the fields and greenhouse.

In some populations it was not easy to find plants free of symptoms: some of them were eliminated, and for most of the tetraploids it was necessary to sort among a larger quantity of plants and consequently it took more time (2 cycles instead of 3 for the same period). The gain of resistance varied between a range of 0 to 2 points (scale 0-5). The evolution curves also varied. In G_2, the gain with the tetraploids is very near from that got with the diploids. The results obtained in the fields in 1976 are similar to those of the greenhouse; in 1977 there were less differences in the fields.

By this breeding method, time is reduced by half. An optimum genetic recombination schema should be used now for using this resistant material.

Références bibliographiques

BENNETT H. W., 1968. Uredospore storage in breeding for crown rust resistant annual ryegrass. *Crop Sci.*, **8**, 627-628.

BLONDON F., 1964. Contribution à l'étude du développement des graminées fourragères : Ray-grass et Dactyle. *Rev. Gen. Bot.*, **71**, (843-844,) p. 193-359.

GIBBS J. C., 1966. Field resistance in *Lolium* sp. to leaf rust (*Puccinia coronata*). *Nature, Lond.*, **209**, p. 420.

GONDRAN J., 1967. Preliminary results from a method of inoculation of cultivars of italian ryegrass (*Lolium multiflorum* and sbps.) with *Puccinia coronata cda*, for testing the rust susceptibility of the cultivars. *Eucarpia Fodder Crops section.* Cologne, 5 sept. 1967, 21-23.

GONDRAN J., 1970*a*. Action de l'oxycarboxine contre la rouille couronnée du ray-grass : amélioration quantitative et qualitative de la récolte en fourrage par élimination du parasite. *Phytiatrie, Phytopharmacie*, **19**, 133-140.

GONDRAN J., 1970*b*. Mise au point de méthodes d'infection artificielle du ray-grass d'Italie (*Lolium italicum Lam.*) par la rouille couronnée (*Puccinia coronata Cda f. sp. Lolii*) en vue de classer la sensibilité des cultivars à ce parasite. Possibilités de perfectionnement de ces méthodes pour la sélection individuelle de plantes résistantes. 7e *Congrès Intern. Protection des Plantes.* Paris, septembre 1970, n° 127 - B 123.

HEARD H. J., ROBERTS E. T., 1975. Disorders of temporary ryegrass swards in south-east of England. *Ann. appl. Biol.*, **81** (2), 240-243.

ISAWA K., NISHIHARA N., 1975. Influences of diseases on the chemical composition and nutritive value of forage crops. Qualitative and quantitative damage of italian ryegrass infected with crownrust. *Bull. Nat. Grassl. Res. Inst.*, n° 6, 87-94.

Mc VEIGH K. J., 1975. Breeding for resistance to crown rust (*P. coronata*) in turf like perennial ryegrass (*L. perenne*). *Dissertation Abstr. Intern.*, **36** (2) 504 B.

WILKINS P. W. (cité par CARR A. J. H.), 1970. *Jubilee Report of the W.P.B.S.*, 1919-1969.

WILKINS P. W., 1975*a*. Implications of host-pathogen variation for resistance breeding in the grass crops. *Ann. appl. Biol.*, **81** (2), 257-261.

WILKINS P. W., 1975*b*. Inheritance of resistance to *Puccinia coronata* and *Rhynchosporium orthosporum* in Italian ryegrass. *Euphytica*, **24**, 191-196.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 349-352.

Induction par le nitrate d'argent de fleurs staminées chez des plantes gynoïques de Melon (*Cucumis melo* L.)

Georgette RISSER et J.-C. RODE

Station d'Amélioration des Plantes Maraichères,
Centre de Recherches d'Avignon, I.N.R.A.,
Domaine Saint Maurice, 84140 Montfavet

Résumé

Des fleurs staminées apparaissent sur des plantes de Melon gynoïques 3 semaines environ après qu'elles aient été pulvérisées par une solution aqueuse de nitrate d'argent à 400 ppm.

Les premières fleurs staminées produites sont des hermaphrodites parfaites; elles sont suivies de fleurs hermaphrodites à ovaire plus ou moins réduit.

On observe une bonne nouaison des fleurs femelles pollinisées par le pollen ainsi produit.

Introduction

Suite à la publication de BEYER (1976) montrant l'effet masculinisant du nitrate d'argent sur Concombre gynoïque, ce produit est de plus en plus utilisé à la place des gibberellines pour induire des fleurs mâles sur les lignées gynoïques de Concombre car il est plus efficace et plus économique (DE PONTI et KHO, 1977; FRANKEN et FRANKEN, 1978).

Jusqu'ici, chez le Melon, tous les essais d'induction de fleurs mâles sur des plantes gynoïques par les gibberellines ou autres substances ont été infructueux (KUBICKI, 1969; ROWE, 1969; ANAIS, 1971); aussi étions-nous très intéressés de connaître l'effet du nitrate d'argent sur cette plante.

Matériel et méthodes

Les plantes gynoïques ont été choisies dans la descendance d'un croisement sœur × frère (gynoïque × monoïque) d'un programme de sélection pour l'introduction de la gynoécie dans le type variétal « Charentais ». Dans cette descendance,

en plus de plantes purement gynoïques ou monoïques, on observe des plantes gynoïques portant également des fleurs hermaphrodites anormales dites hypogynes qui apparaissent plus ou moins précocement (KUBICKI, 1969). Les plantes purement gynoïques choisies, étant de génotypes différents, ont été multipliées par greffage de ramifications sur d'autres plantes de melon pour pouvoir disposer de témoins de même génotype.

Trois essais ont été réalisés sous serre chauffée, le traitement au nitrate d'argent étant effectué sous forme de pulvérisation à l'obscurité d'une solution aqueuse à 400 ppm.

Dans l'essai I, les plantes ont été cultivées en pots de plastique de 11 cm de diamètre et alimentées chaque semaine par une solution nutritive. Huit plantes issues de semis ainsi qu'une de leurs ramifications greffées ont été traitées le 16 mars 1979, alors qu'elles avaient environ 8 feuilles. Une autre ramification greffée a servi de témoin non traité. Les plantes issues de semis avaient été taillées pour être de même grandeur que les plantes greffées.

Dans les essais II et III, des plantes greffées de 3 autres génotypes gynoïques ont été plantées en terre après traitement. Dans l'essai II, deux plantes par génotype ont été traitées le 30 mars et plantées le 18 avril. Dans l'essai III, deux plantes par génotype ont été traitées le 27 avril au stade 6 feuilles et plantées le 7 mai. Les fleurs femelles des plantes témoins ont été pollinisées par le pollen des fleurs staminées apparues sur les plantes traitées.

Résultats

Essai I

Jusqu'au 10 avril, seules des fleurs femelles furent observées aussi bien sur les plantes traitées que sur les témoins puis brusquement des fleurs hermaphrodites bien formées apparurent sur la plupart des plantes traitées (tabl. 1), suivies de fleurs hermaphrodites à ovaire de plus en plus réduit puis de fleurs mâles presque normales. L'essai a été arrêté à ce stade.

Essai II

Sur toutes les plantes traitées, les premières fleurs hermaphrodites apparurent le 17 avril, veille de la plantation. Le 20 avril, les 6 plantes traitées présentaient des fleurs hermaphrodites hypogynes alors que seules des fleurs femelles étaient observées chez les plantes témoins. Les jours suivants, la tendance masculinisante s'accentuait chez les plantes traitées où apparaissaient des fleurs mâles ne présentant plus que des rudiments de stigmates. Début mai, les fleurs femelles réapparaissaient et le 10 mai les plantes traitées étaient de nouveau purement gynoïques.

Essai III

Des fleurs staminées (hermaphrodites normales ou à ovaire réduit) sont apparues du 19 au 28 mai chez les plantes traitées. Les fleurs femelles des plantes témoins pollinisées par ces fleurs staminées ont noué dans une proportion tout à fait normale (tabl. 2).

TABLEAU I

Apparition des fleurs hermaphrodites après traitement au nitrate d'argent
État de la floraison le 12 avril (essai I)

Génotype	Témoin (ramification) greffée)	Plantes traitées	
		(plante issue de semis)	(ramification greffée)
1	♀ seulement	1re fleur ♂ au 10e nœud*	1re fleur ♂ au 9e nœud*
2	♀ seulement	1re fleur ♂ au 9e nœud	1re fleur ♂ au 9e nœud
3	aucune fleur	♀ seulement	1re fleur ♂ au 7e nœud
4	♀ seulement	1re fleur ♂ au 9e nœud	1re fleur ♂ au 9e nœud
5	♀ seulement	1re fleur ♂ au 10e nœud	1re fleur ♂ au 11e nœud
6	aucune fleur	♀ seulement	1re fleur ♂ au 10e nœud
7	♀ seulement	1re fleur ♂ au 9e nœud	♀ seulement
8	♀ seulement	1re fleur ♂ au 9e nœud	1re fleur ♂ au 10e nœud

(*) Les nœuds ont été comptés à partir de la dernière feuille « étalée » au moment du traitement.

TABLEAU 2

Étude de la nouaison (essai III)

	Nombre de fleurs	
	Non nouées (jaunies)	Nouées
Fleurs femelles non pollinisées	11	0
Fleurs femelles pollinisées par le pollen des fleurs staminées	1	5

Dans les trois essais, aucune fleur staminée n'a jamais été observée sur les plantes témoins non traitées.

Discussion et conclusion

Dans nos trois essais, le nitrate d'argent a eu une action masculinisante très nette sur des plantes parfaitement gynoïques. Ce résultat est très intéressant car jusqu'ici nous n'avions aucun moyen d'induire des fleurs staminées chez de telles plantes : certains auteurs avaient préconisé le greffage des plantes gynoïques sur *Cucurbita* sp (Rowe, 1969) ou sur des melons andromonoïques (Anais, 1971)

mais en fait notre expérience montrait que cette pratique n'était efficace que si les plantes gynoïques avaient une certaine tendance à l'hypogynie.

Dans nos essais, le nitrate d'argent a provoqué l'apparition de fleurs staminées environ 3 semaines après son application et pendant 1 à 2 semaines; il a agi sur tous les génotypes traités (descendant il est vrai d'un même croisement) aussi bien sur les plantes issues de semis que sur les plantes greffées. Les étamines formées, bien qu'un peu plus petites que la normale, sont normalement déhiscentes. Des fleurs femelles pollinisées par le pollen ainsi produit nouent et grossissent normalement : le pollen semble donc bien fonctionnel.

Les modifications observées sur les plantes gynoïques de Melon traitées par le nitrate d'argent sont tout à fait semblables à celles provoquées sur les plantes gynoïques de Concombre (De Ponti et Kho, 1977).

Dans nos conditions d'essai, la pulvérisation à l'obscurité de la solution de nitrate d'argent à 400 ppm provoque de légères lésions nécrotiques sur les feuilles traitées mais cette légère phytotoxicité ne paraît pas être une gêne pour l'utilisation de ce produit.

Cette technique pourra apporter une aide efficace à la sélection et à l'entretien des lignées gynoïques de Melon.

Reçu pour publication en mai 1979.

Summary

Silver nitrate induction of staminate flowers in gynoecious plants of Muskmelon (Cucumis melo L.)

Pulverisation of silver nitrate (400 ppm) on gynoecious plants of muskmelon induces staminate flowers that appear about 3 weeks later.

The first staminate flowers are perfectly hermaphrodite; then flowers with ovary more or less reduced succeed.

A good fruit set is observed when female flowers are pollinated by pollen of these staminate flowers.

Références bibliographiques

Anais G., 1971. Nouvelles orientations dans la sélection du melon (*Cucumis melo* L.). Utilisation de la gynoécie. Modification de l'expression du sexe par traitements chimiques (gibberellines, ethrel) et par greffage. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (1), 55-65.

Beyer E. Jr., 1976. Silver Ion: a potent antiethylene agent in cucumber and tomato. *Hortscience*, **11** (3), 195-196.

de Ponti O.M.B., Kho Y. O., 1977. Induktie van mannelijke bloei in komkommer en augurk door zilvernitraat : een alternatief voor gibberellzauur. *Zaalbelangen*, **31** (2), 53-57.

Franken K., Franken S., 1978. Chemical induction of staminate flowers in four determinate gynoecious lines of pickling cucumbers. *Gartenbauwiss.*, **43** (6), 280-282.

Kubicki B., 1969. Sex determination in muskmelon (*C. melo*). *Genet. polon.*, **10** (1-2), 145-165.

Rowe P. R., 1969. *The genetics of sex expression and fruit shape, staminate flower induction and F_1 hybrid feasibility of a gynoecious muskmelon.* Thesis Michigan State University, **20**, 924.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre courant* pour les hauts de pages devra être fourn en 40 signes au maximum; — *le titre du mémoire;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; — *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion et conclusion*; f) *titre et résumé* en anglais ou destinés à être traduits en anglais comportant une analyse *complète* de l'articie; g) *remerciements* pour les collaborateurs, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivis (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues menntionnées); le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.*; le volume; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. RIVES, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris, France. On demande trois exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction à M^me^ MANDON, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, C.N.R.A., 78000 Versailles.

AMÉLIORATION DES PLANTES

Le Directeur de la publication : M.-L. CAGNAC

FD Imprimerie Alençonnaise, rue Édouard Belin, 61002 Alençon

Dépôts légal : 3e trimestre 1979. N° 91.006

CPPAP n° 26633.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1979	France Prix T.T.C.	Étranger Prix Net	LE NUMÉRO France Prix T.T.C.	LE NUMÉRO Étranger Prix Net
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 nos par an	320 F	352 F	77 F	77 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 6 nos par an	320 F	352 F	77 F	77 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 nos par an	284 F	314 F	100 F	100 F
ANNALES DE ZOOLOGIE - ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 nos par an	284 F	314 F	100 F	100 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 nos par an	284 F	314 F	100 F	100 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 nos par an	250 F	276 F	77 F	77 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 nos par an	250 F	276 F	77 F	77 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 nos par an	284 F	314 F	100 F	100 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 4 nos par an	284 F	314 F	100 F	100 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 6 nos par an (*)	335 F	370 F	72 F	72 F

(*) Les abonnements aux Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique doivent être adressés à : « Secrétariat des A.B.A.B.B., I.N.R.A., 78350 JOUY-EN-JOSAS »

APIDOLOGIE, 4 nos par an — Abonnement : France : 80 F — Étranger sauf R.F.A. : 130 F
— Le numéro : France 25 F — Étranger sauf R.F.A. : 40 F

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Génétique et Amélioration de la Vigne. 2e Symposium international sur l'amélioration de la vigne. Bordeaux, 14-18 juin 1977.
472 p., 1978 . . . . . 230,00 F

Pays, Paysans, Paysages dans les Vosges du Sud, pour le Groupe de Recherches I.N.R.A.-E.N.S.S.A.A.
192 p., 1978 . . . . . 55,00 F

Flore illustrée des Phanérogames de Guadeloupe et de Martinique, par **J. Fournet.**
1652 p., 1978 . . . . . 300,00 F

Les Rongeurs de France. Faunistique et Biologie, par **H. Le Louarn** et **M. C. Saint Gyrons.**
164 p., 1977 . . . . . 80,00 F

Carte pédologique de France à 1/100.000. Privas N-19 et Notice explicative par **M. Bornand, J.P. Legros, J. Moinereau**
254 p. et une carte . . . . . 60,00 F

Carte pédologique de France à 1/100 000. Dijon O-12 et notice explicative, par **J. Chretien.**
218 p. et une carte, 1977 . . . . . 60,00 F

Carte pédologique de France à 1/100 000. Condom H-21 et notice explicative, par **J. Séguy.**
152 p. et une carte, 1975 . . . . . 60,00 F

Carte pédologique de France à 1/100 000. Angoulême H-16 et notice explicative, par **G. Callot.**
171 p. et une carte, 1975 . . . . . 60,00 F

Carte pédologique de France à 1/100 000. Moulins L-14 et notice explicative, par **J. C. Favrot.**
177 p. et une carte, 1974 . . . . . 60,00 F

Carte pédologique de France à 1/100 000. Toulon P-23 et notice explicative, par **J. Portier**
107 p. et une carte, 1974 . . . . . 60,00 F

Journées d'information sur l'alimentation azotée des animaux, Paris, 21-22 novembre 1973.
141 p., 1974 . . . . . 27,00 F

L'I.N.R.A. au service des Industries agricoles et alimentaires. Inventaire des Recherches.
266 p., 1974 . . . . . 38,00 F

Symposium international sur la conservation des grains récoltés humides, Paris, 5-10 mars 1973.
762 p., 1973 . . . . . 168,50 F

Le Pois. Étude génétique des caractères, classification, caractéristiques variétales portant sur les variétés inscrites au catalogue officiel français, par **R. Cousin.**
111 p. et 140 fiches, 1974 . . . . . 168,50 F

Contribution à l'étude de la Faune de France. Systématique de la tribu des Scymnini (Coccinellidae), par **J. M. Gourreau.**
223 p., 1974 . . . . . 95,50 F

Les arbres et arbrisseaux acclimatés en région méditerranéenne française. Catalogue commenté, par **P. Augé, P. Allemand, R. Hamès.**
144 p., 1973 . . . . . 63,50 F

Colloque sur l'ovogenèse et la folliculogenèse, Nouzilly, 14-16 décembre 1972.
258 p., 1973 . . . . . 134,50 F

Protoplastes et fusion de cellules somatiques végétales, Versailles, 11-15 septembre 1972. Coédition I.N.R.A.-C.N.R.S.
549 p., 1973 . . . . . 173,00 F

Les demandes d'abonnements (à l'exception des abonnements aux 'Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique) et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.
Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I.N.R.A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U.N.E.S.C.O.
Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.

Ann. Amélior. Plantes, 1979, **29** (3), 227-352.

TABLE DES MATIÈRES

Catherine CHRISTOPHE. — Stratégies de sélection sur indices à partir de plusieurs populations 227

J. M. FAVRE, S. GRENAN. — Sur la production de vrilles, de fleurs et de baies chez la Vigne cultivée *in vitro* 247

I. S. SINGH, H. L. DULIEU. — Compétition pollinique chez des mutants nucléaires de Tabac induits par le rayonnement Gamma 253

J. A. DUBOIS, J. B. HARBORNE, B. X. R. BABLON, F. A. PLONKA. — The inheritance of flower colours and anthocyanins in Flax (*Linum usitatissimum* L. (Couleur des fleurs et anthocyanes chez le Lin) 267

C. MARTIN, Monique CARRE, G. DUC. — Note sur les cultures de tissus de féverole (*Vicia faba* L.). Bouturage, culture de cals, culture de méristèmes 277

Y. BARRIÈRE. — Sélection du Maïs pour la résistance à la pourriture de tiges. Étude de génotypes précoces 289

M. DUJARDIN, B. P. LOUANT, J. P. TILQUIN. — Détermination du caryogramme de *Cichorium intybus* L. 305

A. C. BERNARD, G. MUR. — Observations sur l'organogenèse des bourgeons de plants de *Vitis vinifera* cultivés *in vitro* 311

A. SILVY. — Un calibreur pour semences — Description — Analyse des résultats . . 325

P. MANSAT, M. BETIN. — Sélection du Ray-grass d'Italie pour la résistance à la Rouille couronnée en conditions artificielles 337

Georgette RISSER et J. C. RODE. — Induction par le nitrate d'argent de fleurs staminées chez des plantes gynoïques de Melon (*Cucumis melo* L.) 349

CONTENTS

C. CHRISTOPHE. — Strategies for index selection from several populations 227

J. M. FAVRE, S. GRENAN. — *In vitro* production of tendrils, flowers and berries on Grape 247

I. S. SINGH, H. L. DULIEU. — Pollen competition in y-induced nuclear mutants of Tobacco 253

J. A. DUBOIS, J. B. HARBORNE, B. X. R. BABLON, F. A. PLONKA. — The inheritance of flower colours and anthocyanins in Flax (*Linum usitatissimum* L.) 267

C. MARTIN, Monique CARRE, G. DUC. — Studies on field bean tissue cultures (*Vicia faba* L.), Rooting of stem cuttings, callus culture, meristem culture 277

Y. BARRIERE. — Breeding early maize for *Fusarium* stalk-rot resistance 289

M. DUJARDIN, B. P. LOUANT, J. P. TILQUIN. — Determination of the karyogram of *Cichorium intibus* L. 305

A. C. BERNARD, G. MUR. — *Vitis vinifera* buds grown *in vitro* 311

A. SILVY. — A grader for seeds - Description - Analysis of results 325

P. MANSAT, M. BETIN. — Breeding rust resistant italian ryegrass by use of artificial conditions. 337

G. RISSER, J. C. RODE. — Silver nitrate induction of staminate flowers in gynoecious plants of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) 349

Les Annales d'Amélioration des Plantes figurent dans current contents

I.N. 9.036.029.5